

Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie
der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock
Direktorin: Prof. Dr. med. Nöldge-Schomburg

**Atemgasanalyse unter spiroergometrischer Belastung
mittels Echtzeit-Massenspektrometrie**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

der Universitätsmedizin Rostock

Vorgelegt von:

Roland Schubert

geb. am 28.11.1983 in Rostock

Rostock, März 2012

Gutachter:

1.Gutachter: Prof. Dr. med. Dipl. chem. Jochen Schubert D.E.A.A.
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie
Universitätsmedizin Rostock

2.Gutachter: Prof. Dr. Sven Bruhn
Institut für Sportwissenschaft, Universität Rostock

3.Gutachter: Prof. Dr. Markus Gruber
Sportwissenschaft, Universität Konstanz

Datum der Einreichung: 09.03.2012

Datum der Verteidigung: 06.03.2013

Inhalt

1	Einleitung	1
1.1	Entwicklung in der Atemgasforschung	1
1.2	Physiologisch - biochemische Grundlagen der Atemgasparameter	3
1.2.1	Isopren	3
1.2.2	Aceton.....	4
1.2.3	Ammoniak.....	5
1.2.4	Acetaldehyd	7
1.3	Spiroergometrische Parameter	8
1.3.1	Sauerstoff.....	8
1.3.2	Kohlendioxid	9
1.3.3	Respiratorischer Quotient	9
1.3.4	Atemäquivalent für Sauerstoff	10
1.4	Laktat und Laktatstoffwechsel	10
1.4.1	Laktat in der Leistungsdiagnostik	11
1.4.2	Methoden zur Schwellendiagnostik anhand von Laktat und Ventilation .	11
1.4.3	Limitationen der Schwellendiagnostik und Schwellentheorie	14
1.4.3.1	Schwellenbestimmungsverfahren	14
1.4.3.2	Schwellentheorie	15
1.4.4	Laktat und Ammoniak.....	16
1.5	Ziel der Arbeit und zentrale Fragestellungen	18
2	Material und Methoden	19
2.1	Probanden	19
2.2	Studiendesign	20
2.3	Testablauf	20
2.4	Messmethoden.....	22
2.4.1	Chemisch-analytische Messmethodik	22
2.4.1.1	Identifikation der Inspirations– und der alveolären Expirationsphase.....	23
2.4.2	Sportwissenschaftliche Messmethodik	26
2.4.2.1	Fahrradergometrie.....	26

2.4.2.2	Herzfrequenzmessung	26
2.4.2.3	Laktatmessung	26
2.4.2.4	Spirometrie	26
2.5	Statistik	27
2.5.1	Mittelwertberechnung	27
2.5.2	Normierung.....	27
2.5.3	Berechnung der relativen Arbeit	27
2.5.4	Berechnung der Acetonschwellen.....	28
3	Ergebnisse	29
3.1	Blutlaktatkonzentrationen	29
3.1.1	Blutlaktatkonzentrationen der Probanden zu verschiedenen Testzeiten	29
3.2	Leistung.....	30
3.2.1	Maximale Leistung.....	30
3.2.2	Leistung an der individuellen anaeroben Schwelle (IAS)	30
3.3	Herzfrequenz	32
3.3.1	Maximale Herzfrequenz	32
3.3.2	Herzfrequenz an der IAS.....	32
3.4	Spiroergometrische Messwerte	33
3.4.1	Maxima der spirometrischen Parameter	33
3.5	Volatile Atemgasparameter	34
3.5.1	Exemplarische Darstellung eines Probanden	35
3.5.2	Isopren.....	36
3.5.2.1	Isopren und relative Arbeit	36
3.5.3	Ammoniak.....	37
3.5.3.1	Ammoniak und relative Arbeit.....	37
3.5.3.2	Ammoniak in Abhängigkeit der IAS	38
3.5.4	Aceton.....	39
3.5.4.1	Aceton und relative Arbeit.....	39
3.5.4.2	Aceton in Abhängigkeit der IAS	40
3.5.4.3	Aceton und RER.....	41
3.5.4.4	Aceton und Laktat	42

3.5.4.5	Vergleich der Schwellenbestimmung mittels Laktat (Dickhuth-Methode) und mittels exhalierter Acetonkonzentrationen	43
3.5.4.6	Bestimmung der Acetonmaxima	43
3.5.4.7	Bland Altman Plot (Laktat + Aceton)	46
3.5.4.8	Bland Altman Plot (RER + Aceton)	47
4	Diskussion.....	48
4.1	Sportphysiologische Ergebnisse	48
4.2	Volatile Parameter	48
4.2.1	Isopren	49
4.2.2	Ammoniak.....	50
4.2.3	Aceton und relative Arbeit/ in Abhängigkeit der IAS	52
4.2.4	Aceton und RER	54
4.2.5	Aceton und Laktat.....	55
4.2.6	Bland Altman Plots	56
4.3	Zusammenfassung der Ergebnisse	56
5	Thesen	58
6	Abkürzungsverzeichnis.....	59
7	Abbildungsverzeichnis.....	60
8	Tabellenverzeichnis.....	62
9	Literaturverzeichnis	63

1 Einleitung

1.1 Entwicklung in der Atemgasforschung

Die Grundlagen der Diagnostik und Therapie von Krankheiten wurden bereits im alten Griechenland von Ärzten und medizinischen Gelehrten geschaffen und galten lange Zeit als anerkannt. In engem Zusammenhang mit der Entwicklung und Entdeckung diverser medizinischer Methoden steht die hippokratische Humoralpathologie respektive 4-Säfte-Theorie [1], die sich als Basis der vereinfachten Denkweise der Krankheitsätiologie verstand. So war es schließlich auch Hippokrates, welcher neben dem Ungleichgewicht der vier Säfte, seinen Blick auf den gesamten Menschen richtete und seine Sinne dazu gebrauchte, Krankheiten aufzuspüren, indem er u.a. am Atem, am Schweiß oder auch am Urin seiner Patienten roch.

Auch heutzutage, oder besser, gerade in heutiger Zeit liegt der Gedanke nicht fern, Krankheiten bzw. allgemein Stoffwechselveränderungen in der Ausatemluft festzustellen. So etablierten sich mittlerweile schon verschiedenartige innovative Verfahren vom Widmark-Test [2] zum nichtinvasiven Nachweis von Ethanol bei Verkehrssündern bis hin zur Kapnometrie, die heute ein fester Bestandteil des klinischen Monitorings bei beatmeten Patienten ist. Andere Atemtests, die nicht zur Überprüfung der Lungenfunktion dienen, sondern über etwaige Ursachen für Störungen im Bereich des Magen-Darm-Trakts Aufschluss geben sollen, nehmen als sogenannte Substrattests einen festen Platz ein. Dabei werden molekulare Bestandteile der Ausatemluft untersucht. Ergänzend zu diesem Konzept lassen sich medizinisch relevante Atemgasteste nennen, wie z.B. der H₂-Atemtest zur Untersuchung metabolischer Dysfunktionen beim Abbau von Laktose, Fructose etc. [3].

Rückblickend war es Lavoisier, der sich im 18. Jahrhundert besonders mit der Atemgasanalytik auseinandersetzte und dabei sowohl die Zusammensetzung der Luft als auch die Gase Sauerstoff und Kohlendioxid als Bestandteile der Respiration beschrieb [4]. Linus Pauling konnte in den 70er Jahren des 20. Jahrhunderts mittels Gaschromatografie volatile organische Substanzen (VOCs - **v**olatile **o**rganic **c**ompounds), die in Konzentrationen von 10^{-9} bis 10^{-12} mol/l vorlagen, im menschlichen Atemgas nachweisen [5] und belegen, dass neben den Hauptbestandteilen (N₂ 75 %, O₂ 13 %, CO₂ 5 %, H₂O 6%) volatile organische

Substanzen im Spurenbereich Komponenten der menschlichen Atemluft sind. Neben Substanzen exogenen Ursprungs, die von der Umwelt aufgenommen werden, lassen sich auch zahlreiche endogene Verbindungen nachweisen, von denen einige in der letzten Dekade intensiv erforscht wurden [6]. Zu den häufig betrachteten volatilen Verbindungen gehören Alkane (Ethan, Propan, Butan, Pentan) und Alkene (Isopren), Alkohole (Ethanol), Ketone (Aceton), Oxide (NO, CO), Aromaten (Benzol, Phenyle) und Aldehyde (Acetaldehyd, Hexanal). Viele der aufgezählten Substanzen bzw. Stoffgruppen wurden unter diversen Gesichtspunkten und differierenden Umständen (Ruhe, Schlaf, Belastung, OP-Stress etc.) untersucht, da viele von ihnen physiologische oder pathophysiologische Prozesse widerspiegeln können. Man untersuchte z.B. den Zusammenhang von Alkanen und der Oxidation von Fettsäuren. Dabei wurde nachgewiesen, dass sich kurzkettige Alkane, insbesondere Ethan und Pentan als Marker für zellulären oxidativen Stress eignen [7]. Veränderte Konzentrationen von Isopren ließen sich bei Herzfehlern, nach Ozonbelastung [8] und nach Lungenerkrankungen wie Pneumonien oder ARDS erkennen [9]. Bei Aceton konnte man eine enge Beziehung zu Stoffwechselfehlfunktionen, wie sie bei Diabetes mellitus vorliegen, beobachten [10]. Für den charakteristischen Geruch bei Leberzirrhosekranken sind schwefelhaltige Verbindungen wie Dimethylsulfide verantwortlich [11]. Erhöhte Mengen anderer Kohlenstoffdisulfide wurden bei Schizophreniepatienten gemessen [12]. Stickstoffhaltige Verbindungen wie Ammoniak konnten bei speziellen pathologischen Hintergründen wie der Urämie in höheren Konzentrationen im Atem ermittelt werden [13]. Weitere Untersuchungen beschäftigten sich mit möglichen Korrelationen der Bestandteile der Atemluft und des Lungenkrebses. Hierbei standen besonders Aldehyde im Fokus der Betrachtung [14].

Die nicht-invasive Durchführbarkeit aller Atemgastests, ohne zusätzliche Belastung des Patienten oder Probanden, stellt einen wesentlichen Vorteil bei der Wahl der diagnostischen Methode dar.

Verschiedenen Arbeitsgruppen gelang es in den vergangenen Jahren Konzentrationsänderungen von Atemgasbiomarkern wie z.B. Isopren oder Aceton in der Ausatemluft während physischer Belastung aufzuzeigen [15, 16]. Diese Tatsache bot Anlass für weitere ergänzende, neue Untersuchungen, welche Gegenstand der vorliegenden Arbeit sind.

1.2 Physiologisch - biochemische Grundlagen der Atemgasparameter

Im Folgenden wird auf die Hintergründe der Stoffwechselphysiologie der untersuchten volatilen Atemgasbiomarker eingegangen.

1.2.1 Isopren

Isopren ist ein ungesättigter Kohlenwasserstoff, welcher sowohl vom Menschen als auch von vielen Tieren und Pflanzen produziert wird [17]. Beim Menschen stellt Isopren nach dem Aceton den zweitgrößten Anteil der endogen produzierten Kohlenwasserstoffe in der Ausatemluft dar [18].

Isopren wird im Organismus als ein Zwischenprodukt in der Cholesterinbiosynthese produziert. Dabei kommt es zunächst zur Bildung von β -Hydroxymethylglutaryl-Coenzym A (β -HMG-CoA) aus Acetyl-CoA. Als nächster Schritt wird Mevalonat aus β -HMG-CoA durch die β -HMG-CoA-Reduktase im Zytosol gebildet, welches zugleich den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt für die gesamte Biosynthese darstellt. Im Folgenden entsteht nun aus Mevalonat das aktive Isopren, das Isopentenylpyrophosphat, das in weiteren Schritten zu Cholesterin aufgebaut wird [19]. Durch Einnahme von Statinen, welche als β -HMG-CoA-Reduktase-Hemmer fungieren, wurde nicht nur eine medizinisch relevante Cholesterolproduktionssenkung, sondern ebenfalls eindeutig ein Absinken der Isoprenproduktion gezeigt [20]. Dabei ist dies vermutlich nicht der einzige endogene Entstehungsort des Isoprens. Als Diskussionsgrundlage bot sich auch die Beobachtung an, dass in der Leber einer Ratte eine Eliminationsreaktion direkt von Dimethylallylpyrophosphat zu Isopren nachgewiesen werden konnte, jedoch ohne eine Bestätigung respektive Negierung bezüglich des humanen Metabolismus vorzunehmen [21]. Bei Pflanzen zumindest konnte zufälligerweise ein Mevalonat – unabhängiger Bildungsort ermittelt werden [22]. Andere Hypothesen diesbezüglich wurden durch Kohlmüller et al. [23] aufgeworfen, der von einer weiteren, möglichen Isoprenquelle infolge radikalvermittelter Peroxidation ausging. Die letztgenannten Synthesewege konnten allerdings bisher nie für den Menschen bewiesen werden.

Gemessene Blutkonzentrationen liegen zwischen 15 – 70 nmol/l [24] bei einer endogenen Produktionsrate von 0,15 nmol/kg/h [17]. Isopren weist also deutliche interindividuelle Schwankungen, welche auch altersabhängig sind, auf. So wurden bei Kindern geringere

Konzentrationen festgestellt [25]. Weiterhin waren tageszeitliche Schwankungen mit Maxima um 6 Uhr morgens und Minima um 6 Uhr abends erkennbar [6]. Es gelang darüber hinaus verschiedene Abhängigkeiten aufzuzeigen, wie z.B. vom Rauchen oder auch vom Schlaf [26]. Im Gegensatz dazu konnten allerdings keine Unterschiede in Bezug auf Geschlecht oder Body Mass Index konstatiert werden [27]. Karl et al. [15] zeigten mittels Protonen Transfer Reaktion-Massenspektrometer (PTR-MS), dass Isopren unter ergometrischer Belastung einen speziellen und reproduzierbaren Verlauf mit initialem Anstieg und sukzessivem Abfall während der Belastung aufwies.

1.2.2 Aceton

Aceton ist eine der Verbindungen, die in der Atemluft in hohen Konzentrationen detektierbar ist und neben Acetoacetat und β -Hydroxybutyrat die Gruppe der Ketonkörper komplettiert. Ketonkörper entstehen im menschlichen Stoffwechsel unter Hungerbedingungen bzw. längeren sportlichen Belastungen [28]; aber auch bei Neonaten bzw. Schwangeren wurden Ketone nachgewiesen [29]. Erhöhte Ketonwerte als Zeichen einer Stoffwechselpathologie wurden bei Diabetikern gemessen. An dieser Stelle sei der hierbei typische Acetongeruch im Atem bei schlechter Diabeteseinstellung bzw. als Hinweis auf einen bereits dekompensierten Zustand zu nennen [25]. Ein Zusammenhang zwischen Plasmaaceton- und Atemluftkonzentrationen ist bekannt [30].

Es sind verschiedene Synthesemöglichkeiten beschrieben worden, von denen speziell für die endogene Acetonbildung die Decarboxylierung von Acetoacetat zu Aceton eine herausragende Stellung einnimmt.

Ketonkörper werden als Folge einer gesteigerten Lipolyse, damit einhergehender erhöhter Fettsäurekonzentration im Blut und einer verstärkten β -Oxidation gebildet. Dabei entsteht viel Acetyl-CoA, das von Citratzyklus und Atmungskette nicht mehr abgebaut werden kann. Je zwei Moleküle Acetyl-CoA reagieren zu Acetoacetyl-CoA und schließlich zu Acetoacetat. Dieses verbindet sich häufig mit einem weiteren Acetyl-CoA zu β -Hydroxybutyrat. Acetoacetat kann auch spontan zu Aceton decarboxylieren, das von Körperzellen allerdings nicht verwertet werden kann und deshalb in größeren Mengen über die Lungen abgeatmet wird [19]. Einen direkten Zusammenhang zwischen freier Fettsäurekonzentration und Ketonkörperkonzentration im Blut unter Muskelarbeit stellten Krasnova et al. [31] anschaulich dar (Abb. 1).

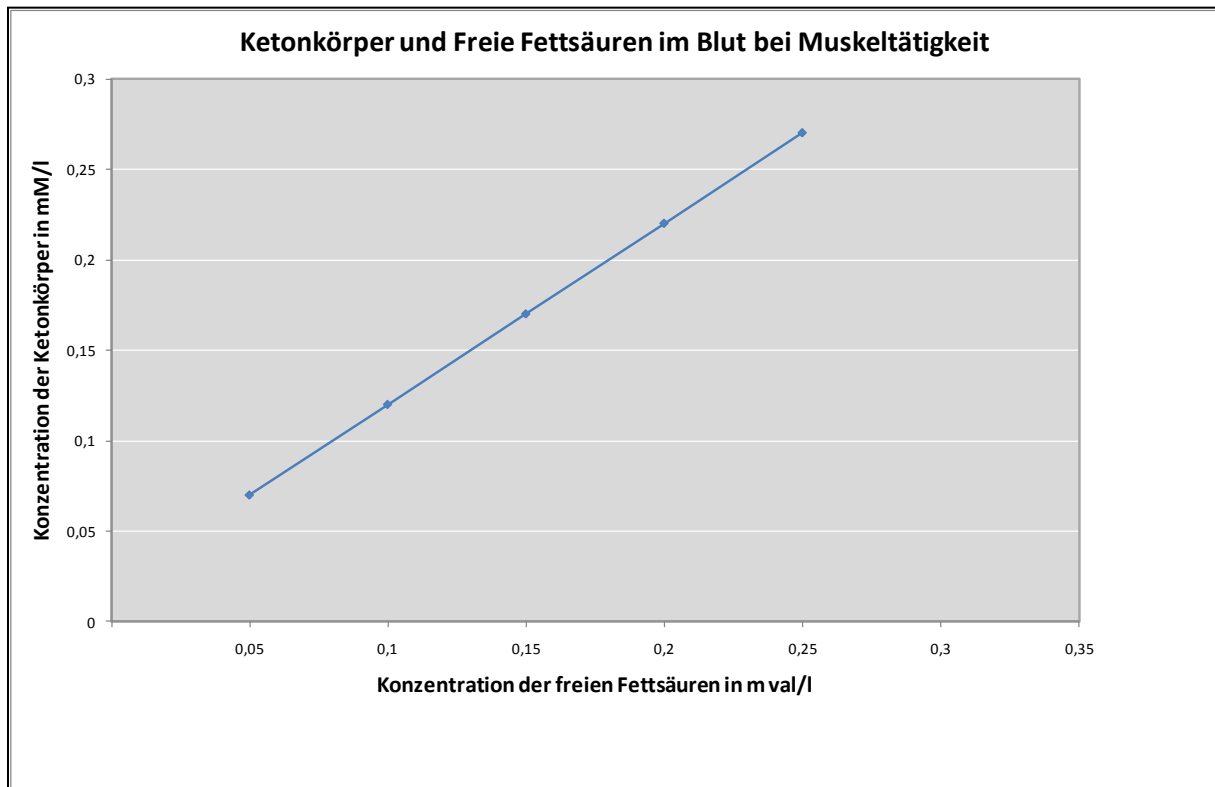


Abb. 1: Darstellung des Zusammenhangs von Ketonkörper und freien Fettsäuren im Blut bei Muskeltätigkeit; Abszisse: Konzentration der freien Fettsäuren in mval/l; Ordinate: Konzentration der Ketonkörper in mmol/l, modifiziert nach [31]

Ketonkörper stellen eine Möglichkeit dar, energiereiche Verbindungen in Form des Acetyl-CoA zu anderen Geweben wie Gehirn, Herz, aber auch der Skelettmuskulatur zu transportieren, um bei absolutem oder auch relativem (Diabetes) Hungerzustand die lebenswichtigen Organe mit Energieträgern zu versorgen [32].

1.2.3 Ammoniak

Ammoniak ist eine chemische Verbindung aus Wasserstoff und Stickstoff (NH_3). Im Körper liegt Ammoniak bei einem pH-Wert des Blutes von 7,4 zu 98,5% in protonierter Form als Ammoniumion NH_4^+ und nur zu 1,5% als NH_3 vor [19]. Ammoniak nimmt unter Ruhebedingungen eine wesentliche Position in der Aufrechterhaltung der Stickstoffhomöostase ein, indem der anfallende Stickstoff aus dem Protein-Turnover (Aminosäuren) entweder als NH_4^+ abgespalten (desaminiert) oder durch Transaminierung in andere Aminosäuren (v.a. Alanin, Glutamin, Aspartat) eingebaut wird. Diese Aminosäuren

(Glutamin und Alanin u.a.) werden nun zur Leber transportiert, um dort den in der Aminosäure gebundenen zytotoxischen Ammoniak wieder freizusetzen und ihn zur Ausscheidung in den weniger giftigen Harnstoff umzuwandeln. Restmengen von NH_4^+ , die nicht verstoffwechselt wurden, werden von perivenösen Hepatozyten aufgenommen und in Form von Glutamin wieder ans Blut abgegeben [33, 34]. So lässt sich auch erklären, warum bei Leberzirrhose die Gefahr besteht, dass Ammoniak als potentiell neurotoxische Substanz bei unzureichendem Abbau Gehirngewebe zerstören kann, bis hin zu einer hepatischen Enzephalopathie [35]. Aber auch andere Gewebe wie z.B. die Niere bauen Glutamin ab und setzen den Ammoniak zur Neutralisierung von saurem Urin respektive zur Kompensation metabolischer Azidosen ein. Bei Nierenversagen konnte man hohe Ammoniakkonzentrationen im Atem detektieren [13]. Wenn man sein Augenmerk auf sportliche Bereiche richtet, kommt es zur Ammoniakproduktion über den Purinnucleotidzyklus. Dabei wird zur Muskelkontraktion Adenosintriphosphat (ATP) benötigt, welches zu Adenosindiphosphat (ADP) und Phosphat (P) zerfällt. Bei höheren Belastungen mit größeren ATP-Umsatzraten entsteht aufgrund der Akkumulation von ADP zunehmend Adenosinmonophosphat (AMP) über die Myokinasereaktion, bei der aus zwei ADP ein ATP und ein AMP gebildet wird. Dadurch kommt es zur AMP-Desamination, wodurch Inositolmonophosphat (IMP) und NH_3 , welches unter azidotischen Bedingungen sofort zu NH_4^+ protoniert, entstehen [36, 37] (Abb.2).

Aber auch durch Verstoffwechselung von Aminosäuren unter Belastung kommt es zur Ammoniakbildung [38].

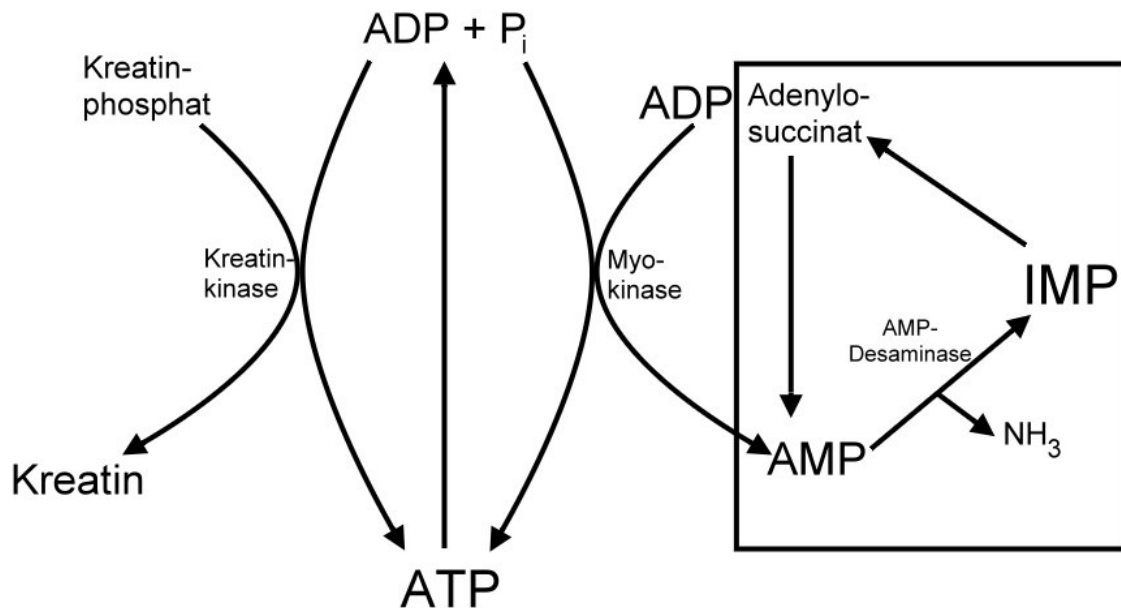


Abb. 2: Purinnukleotidzyklus, modifiziert nach [39]

1.2.4 Acetaldehyd

Acetaldehyd (Ethanal) wird im Körper beim Abbau von Ethanol über die Alkoholdehydrogenase gebildet und weiter über die Aldehyddehydrogenase zu Acetat und schließlich zu Acetyl-CoA verstoffwechselt, welches nun als Substrat für den Citratzyklus fungiert [40]. Andere Beobachtungen zeigten, dass bestimmte Bakterienstämme Acetaldehyd und Glycin aus Threonin bilden [41]. Ähnliche Synthesewege von Ethanal wurden auch im humanen Organismus nachgewiesen. Beispielsweise wird beim Pyruvatstoffwechsel durch den ersten Schritt der Pyruvatdehydrogenase ein Hydroxy-Ethylrest (Acetaldehyd) formiert, welcher weiter in mehreren Reaktionsschritten zu Acetyl-CoA reagiert. Aber auch beim Aminosäureabbau von Threonin, was bei starken körperlichen Belastungen zur Energiegewinnung herangezogen wird, entsteht Acetaldehyd [19].

1.3 Spiroergometrische Parameter

Die Spiroergometrie zielt in der täglichen Praxis bei allen zu Untersuchenden darauf ab, eine Atemgasanalyse bei definierten Belastungen zur Beurteilung der körperlichen Leistungsfähigkeit durchzuführen, unabhängig davon, ob hierbei etwaige Pathologien diagnostiziert werden oder Leistungsdiagnostik zur Trainingsteuerung im Vordergrund steht [42]. Basierend auf der Fragestellung sowie den Voraussetzungen des Patienten/Probanden kommt es zum Einsatz unterschiedlicher Testprotokolle, die allerdings die gleichen wesentlichen Parameter wie Sauerstoffaufnahme ($\dot{V}O_2$), Kohlendioxidabgabe ($\dot{V}CO_2$), Atemminutenvolumen (AMV), Atemfrequenz (AF) und relevante Quotienten wie den respiratorischen Quotienten ($RQ = \dot{V}CO_2/\dot{V}O_2$) und das Atemäquivalent ($AMV/\dot{V}O_2$) ermitteln.

1.3.1 Sauerstoff

Die Sauerstoffaufnahme oder besser die maximale Sauerstoffaufnahme ($\dot{V}O_{2max}$) ist die entscheidende Messgröße zur Beurteilung der aeroben Ausdauerleistungsfähigkeit. „Dabei handelt es sich um die Menge Sauerstoff, die vom inhalierten Gas pro Zeiteinheit extrahiert wird“ [43]. Dafür werden die Sauerstoffkonzentration der inspirierten und expirierten Luft sowie die Gesamtmenge analysiert. Die $\dot{V}O_{2max}$ hängt dabei von der äußeren Atmung, ergo Ventilation und Diffusionskapazität, dem Sauerstofftransport (Hämoglobin, Herzzeitvolumen) und dem Sauerstoffverbrauch (Mitochondriendichte, Muskelfaserspektrum) ab [44]. Für eine bessere Vergleichbarkeit führte man die relative $\dot{V}O_{2max}$ ein, indem man eine Gewichtsnormierung vornahm ($relative \dot{V}O_{2max} = absolute \dot{V}O_{2max} / \text{Kilogramm Körpergewicht}$) [43] (Tab. 1).

	absolute $\dot{V}O_{2max}$	relative $\dot{V}O_{2max}$
Ausdauertrainierte	6 l/min	90ml/min/kg KG
Nichtausdauertrainierte	2-3,5 l/min	30-50ml/min/kg KG

Tabelle 1: absolute und relative $\dot{V}O_{2max}$ -Werte bei Ausdauertrainierten und Nichtausdauertrainierten, KG= Körpergewicht; modifiziert nach [44]

Per definitionem ist die $\dot{V}O_{2max}$ der Wert, der trotz einer Steigerung der Belastung kein Ansteigen der $\dot{V}O_2$ zur Folge hatte. Man spricht in diesem Zusammenhang vom Levelling-off. Neuere Untersuchungen konnten hingegen dieses Levelling-off Phänomen selten zeigen, so dass man häufig als absolute $\dot{V}O_{2max}$ den $\dot{V}O_2$ -Wert, der bei maximaler Anstrengung und

gleichzeitigem Belastungsabbruch erreicht wird, annimmt [44-46]. Man geht außerdem davon aus, dass bei einem RQ von $>1,15$, bei einem Atemäquivalent für O_2 $>30-35$ sowie bei Laktatwerten von $>8-9\text{mmol/l}$ die maximale Sauerstoffaufnahme erreicht sein sollte [44]. In Anbetracht der bereits angedeuteten Abhängigkeiten der $\dot{V}O_{2\max}$, scheint es nicht zu verwundern, dass bei der $\dot{V}O_{2\max}$ deutliche Geschlechtsunterschiede festzustellen sind. Weiterhin wird u.a. die $\dot{V}O_{2\max}$ durch Gewicht, Training und Ergometerart (unterschiedlicher Umfang der beanspruchten Muskulatur) wie z.B. Laufbandergometer positiv, sowie das Alter negativ, beeinflusst [44, 47, 48].

1.3.2 Kohlendioxid

Kohlendioxid hat zwei wesentliche Ursprünge im Körper. Zum einen entsteht es bei der oxidativen Phosphorylierung, wobei Glucose über Glykolyse, Citratzyklus und Atmungskette mithilfe von Sauerstoff zu Adenosintriphosphat abgebaut wird. Ebenso beim Stoffwechsel von Nahrungsbestandteilen wie Proteinen und Fetten wird CO_2 gebildet. Zum anderen kommt es zur CO_2 -Bildung bei der Pufferung von Metaboliten, die während des anaeroben Stoffwechsels produziert werden. Hierbei erfolgt eine Abnahme der Bicarbonatkonzentration und konsekutiv eine Zunahme des wichtigsten Atemtriggers CO_2 im Blut bis hin zu einer metabolischen Azidose, welche durch eine Steigerung der Ventilation respiratorisch kompensiert wird. Diese Kompensation gelingt nur in einem bestimmten Rahmen, so dass es bei intensiven Belastungen zu einem überproportionalen CO_2 -Anstieg kommt, welcher nicht mehr durch Ventilationssteigerung ausgeglichen werden kann [49].

1.3.3 Respiratorischer Quotient

Der RQ beschreibt das Verhältnis von CO_2 -Abgabe und O_2 -Aufnahme. In diesem Zusammenhang erlaubt der RQ Aussagen über die vorherrschenden Stoffwechselverhältnisse zu treffen, da er sich in Abhängigkeit von der Substratwahl zur Energiegewinnung ändert. Allerdings findet auch der Begriff der respiratory exchange rate/ratio [50] Anwendung. Zum besseren Verständnis sei gesagt, dass sich RER auf die gesamte Atmung bezieht („äußere“ Atmung im Respirationstrakt und „innere“ Atmung in den Mitochondrien). Der RQ hingegen beschreibt den Prozess der inneren Atmung. Unter der Voraussetzung einer idealen Atmung und eines steady states entspricht RER dem RQ. Eine Abweichung der RER vom RQ ist beispielsweise bei Hyper- oder Hypoventilation zu

verzeichnen [51]. Im Folgenden der vorliegenden Arbeit wird zur Beschreibung des respiratorischen Quotienten ausschließlich RER verwendet. Bei der Verbrennung von Lipiden und Proteinen ist mehr Sauerstoff erforderlich, so dass eine RER von 1 unter reiner Kohlenhydratverbrennung bei einem ausgeglichenen Verhältnis von CO_2/O_2 ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{O}_2 \rightarrow 6 \text{CO}_2 + 6 \text{H}_2\text{O}$) gemessen wird. Unter dem Abbau von Lipiden verändert sich die RER zu 0,7 und unter Proteinen, abhängig von der Aminosäurezusammensetzung, zu 0,8. Eine Mischkost aus Kohlenhydraten, Fetten und Proteinen führt zu einer RER von 0,82-0,85. Allerdings kann die RER den Wert 1 in submaximalen bzw. maximalen Belastungsbereichen überschreiten, da in dieser metabolischen Phase die CO_2 -Produktion die O_2 -Aufnahme übertrifft bzw. CO_2 aufgrund der Hyperventilation zunehmend abgeatmet wird und Hämoglobin bereits zu 100% gesättigt ist. Bei gut trainierten Personen kann die RER gerade in submaximalen Bereichen geringer sein als bei Durchschnittssportlern [52].

1.3.4 Atemäquivalent für Sauerstoff

Das Atemäquivalent spielt sowohl in der Sportwissenschaft als auch in der Medizin eine nicht unbedeutende Rolle. Es beschreibt das Verhältnis von Atemminutenvolumen (Atemfrequenz x Atemzugvolumen) dividiert durch die Sauerstoffaufnahme. Es stellt damit einen Index dafür dar, welche Menge geatmete Luft notwendig ist, um einen Liter Sauerstoff aufzunehmen und spiegelt so die ventilatorische Effizienz wider [43]. Diese ist bei leichten bis mittleren Belastungsintensitäten (Pulsfrequenzen von 120-130/min) optimal, was sich in einem kleinen Atemäquivalent niederschlägt, welches zum Ende der Belastung unter tatsächlichen Ausbelastungsumständen Werte von 30-35 annehmen kann. Das Atemäquivalent variiert in Abhängigkeit vom Trainingszustand und kann bei Leistungssportlern bzw. bei pathologischen Zuständen sogar Werte von 40-50 erreichen. Die Atmungsökonomie ist demnach unter leichten Belastungen besser als in Ruhe [42].

1.4 Laktat und Laktatstoffwechsel

Laktat ist das Salz der Milchsäure und nimmt eine entscheidende Position im menschlichen Stoffwechsel ein. Es wird als Endprodukt der Glykolyse gebildet. Die Glykolyse ist der erste von drei Schritten bei der Bildung von ATP und wird von allen Körperzellen durchgeführt. Den größten Anteil an der Laktatbildung haben dabei die Muskelzellen. In Ruhe entstehen

nur geringe Mengen an Laktat, das ans Blut abgegeben und von anderen Organen wie Herz oder Leber wieder zu Pyruvat umgewandelt wird und so weiter verstoffwechselt werden kann [53]. Speziell unter ansteigenden Belastungsbedingungen kommt es vermehrt zur Reduktion von Pyruvat zu Laktat durch die Laktatdehydrogenase (LDH). Diese Reaktion hat die Generierung von NADH/H⁺ zur Aufrechterhaltung der Glykolyse und somit zur Bildung von 2 ATP aus einem Molekül Glucose als Ziel, um einen Untergang der Zelle zu verhindern [19]. Bei intensiven Belastungssituationen kommt es zu einem CO₂-Anstieg und zu Protonentransporten in den Extrazellularraum, wodurch es kurzfristig zu enormen pH-Veränderungen kommen kann. Es wurden pH-Werte im Blut von unter 7,0 [54] und lokal in der Muskulatur sogar bis 6,4 gemessen [55].

1.4.1 Laktat in der Leistungsdiagnostik

Das klassische Prinzip der Leistungsdiagnostik stellt die Spiroergometrie mit Ermittlung der $\dot{V}O_2\text{max}$ sowie ventilatorischer Schwellen dar. Daneben haben sich insbesondere Laktatschwellenkonzepte etabliert, da sie den Vorteil bieten, bereits bei submaximalen Bereichen Aussagen über die Leistungsfähigkeit zu treffen.

1.4.2 Methoden zur Schwellendiagnostik anhand von Laktat und Ventilation

Wenn die Rede von Schwellen in Bezug auf Leistungsdiagnostik in der Sportwissenschaft sowie Sportmedizin ist, sind in diesem Kontext die aerobe und die anaerobe Schwelle zu nennen. Dabei spiegeln diese Schwellen, die zur Erstellung von Trainingsprogrammen und gleichzeitig zur Vermeidung von Überbelastung im Breiten- wie auch im Leistungssport dienen, richtungsweisende metabolische Verhältnisse im Körper wider.

Spiroergometrische Schwellenkonzepte nehmen Bezug auf die verschiedenen bereits erwähnten Spirometrieparameter. $\dot{V}O_2$ und $\dot{V}CO_2$ werden zur Ermittlung der „ventilatory threshold“ 1 und 2 (VT 1 und 2) benötigt. Zur Bestimmung der ventilatory threshold kam in dieser Arbeit das V-Slope-Verfahren [56] zur Anwendung. Die VT 2 ist hierbei als der Punkt definiert, der einen überproportionalen Anstieg des Atemminutenvolumens gegenüber der $\dot{V}CO_2$ kennzeichnet [57]. Das gleiche Verfahren, also die V-Slope-Methode, allerdings mit Hilfe von $\dot{V}CO_2$ und $\dot{V}O_2$, wurde zur Bestimmung der VT 1 verwendet.

Andere spirometrische Verfahren zur Schwellenwertbestimmung nutzen RER oder auch das Atemäquivalent. Hierbei entspricht der erste überproportionale Anstieg von RER der VT 1

und RER-Werte >1 der VT 2 [57]. Ein steiler Anstieg des Atemäquivalents unter Belastung gebe ebenfalls einen Hinweis für die VT 2. Beide Methoden, sowohl RER als auch Atemäquivalent, gelten allerdings als unsichere Bestimmungsmethoden.

Unter ansteigender Belastung wird zunächst die aerobe oder auch ventilatorische Schwelle (VT 1) als Zeitpunkt des optimalen Atmungswirkungsgrades erreicht [49]. Diese symbolisiert gleichzeitig den ersten Laktatanstieg. Dabei setzen zunächst Kompensationsmechanismen zum Ausgleich des pH-Abfalls, wie die Abpufferung über Bikarbonat, ein. Dadurch allerdings steigt CO_2 an, welches wiederum zu einer Zunahme der Ventilation führt. Die zweite ventilatorische Schwelle (VT 2) und zugleich der zweite überproportionale Anstieg in der Ventilation kennzeichnet den sogenannten respiratorischen Kompensationspunkt (RCP), welcher einen engen zeitlichen Zusammenhang zur anaeroben Laktatschwelle während des Belastungstests bietet, jedoch etwas später einzuordnen ist [57, 58] (Abb.3). Dieser RCP soll also die Belastungsbereiche kenntlich machen, bei denen ein übermäßiger Anstieg der Protonen aus dem Muskelstoffwechsel nicht mehr durch den Organismus abgepuffert werden kann und somit ein weiterer pH-Abfall als Atemtrigger fungiert [49].

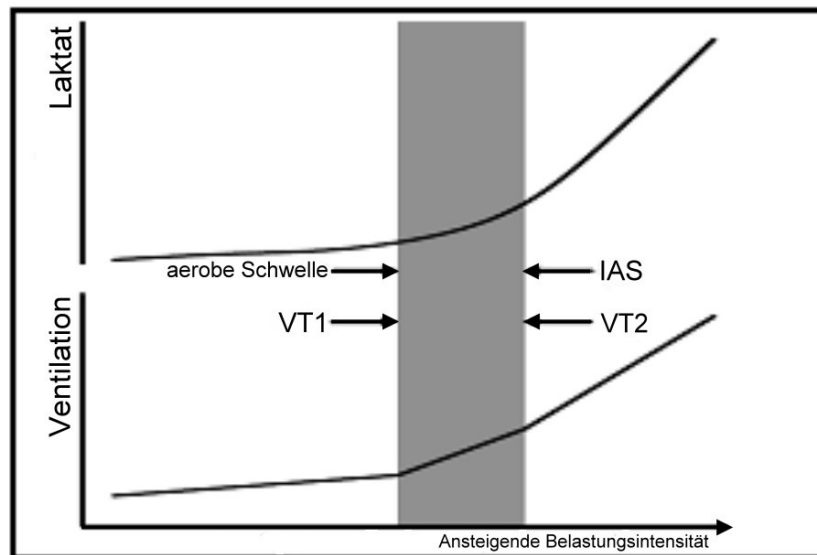


Abb. 3: Schematische Darstellung des aerob-anaeroben Übergangs (grauer Bereich). Ventilation (unten) und Laktatleistungskurve (oben) unter ansteigender Belastungsintensität. IAS: Individuelle anaerobe Schwelle; VT 1: ventilatorische Schwelle 1; VT 2: ventilatorische Schwelle 2 (respiratorischer Kompensationspunkt); modifiziert nach [49]

Die sogenannte anaerobe Laktatschwelle, wie sie von Mader et al. [59] definiert wurde, liegt im Durchschnitt bei einer Blutlaktatkonzentration von 4 mmol/l [59, 60]. Diese so festgelegte Schwelle soll das maximale Laktat-Steady-State (MLSS) und damit die Leistung veranschaulicht darlegen, oberhalb derer Laktat im Blut akkumuliert, unterhalb derer Laktat im Gleichgewicht zwischen Produktion und Elimination verbleibt. Das MLSS stellt somit den besten Prediktor für die anaerobe Schwelle dar [61]. Die eigentliche „Schwelle“ variiert ganz entscheidend in Abhängigkeit vom Leistungsstand und der Belastungsart, so dass diverse Methoden zur Ermittlung der individuellen anaeroben Schwelle (IAS) entwickelt wurden, wobei sich bisher keine davon als Goldstandardmethode etabliert hat [60, 62].

Bei den Auswertungen fanden hauptsächlich die Schwellenkonzepte nach Dickhuth [58], Stegmann [63] sowie spiroergometrische Analysen Anwendung. Bei der Dickhuthmethode, auch „+1,5mmol/l Methode“, wird ausgehend vom Laktatäquivalent ($La/\dot{V}O_2/kg$) eine Addition von 1,5mmol/l vorgenommen. Um dieses Laktatäquivalent oder auch Basislaktat zu erhalten, erfolgt zuvor eine Mittelwertberechnung der Laktatwerte von Testbeginn bis zu dem Stufenwert, der 0,4mmol/l höher liegt als der vorangegangene. Zu diesem Mittelwert werden 1,5mmol/l addiert, um so einen Schwellenlaktatwert zu erhalten. Eine weitere verbreitete Methode wurde durch Stegmann et al. [63] publiziert. Dabei sind

Nachbelastungslaktatwerte notwendig. Erreicht der Laktatwert auf der Erholungskurve den Endbelastungswert, dann wird von diesem Zeitpunkt eine Tangente an die Laktatzeitkurve gelegt. Der Berührungspunkt mit der Kurve stellt die IAS dar.

1.4.3 Limitationen der Schwellendiagnostik und Schwellentheorie

Zunächst werden die verschiedenen Schwellenbestimmungsverfahren beleuchtet, um im darauffolgenden Unterpunkt die Schwellentheorie per se zu diskutieren.

1.4.3.1 Schwellenbestimmungsverfahren

Seitdem die Rede von einer anaeroben Schwelle in der Sportwissenschaft ist, gibt es auch die Diskussion um die verschiedenen Möglichkeiten der Bestimmung der anaeroben Schwelle.

Es bestehen zum gegenwärtigen Zeitpunkt über 20 verschiedene Schwellenbestimmungsverfahren [64], was verdeutlicht, welche Flut von Überlegungen angestellt wurde, um eine geeignete Methode zur Messung der anaeroben Schwelle zu finden. Dabei haben sich die Methode nach Dickhuth, Stegmann, aber auch Keul [65], Kindermann [66] und Mader in ihrer Praktikierbarkeit und Messgenauigkeit herauskristallisiert und kamen bzw. kommen zu stärker frequentierter Anwendung als die anderen.

Aber selbst diese zeigen deutlich differierende Ergebnisse bezüglich der anaeroben Schwelle, so dass für einen Probanden und seine dazugehörige Laktatleistungskurve unterschiedliche Schwellenkonzepte auch verschiedene Ergebnisse für die Schwelle liefern [64].

Es gibt nicht nur Schwellenunterschiede aufgrund verschiedener Methoden, sondern auch aufgrund unterschiedlicher Faktoren, die Einfluss auf die Laktatleistungskurve nehmen und somit zusätzlich ins Kalkül gezogen werden sollten. So variiert der Verlauf der Laktatleistungskurven in Abhängigkeit von verschiedenen Testprotokollen, Pausenzeiten und Glykogenbeladungen [50, 67, 68].

Darüber hinaus differiert der Laktatverlauf in Abhängigkeit der Sportart, der Rekrutierung unterschiedlicher Muskelfasern [69], des Trainingsstands [70], der Höhenlage [71] und der Umgebungstemperatur [72].

1.4.3.2 Schwellentheorie

Leistungsdiagnostik via Laktatschwellenbestimmung zur Trainingssteuerung wird sowohl beim Amateur- als auch Leistungssport seit vielen Jahren erfolgreich angewendet und zeigt besonders im Breitensportbereich bei ambitionierten Hobbysportlern, kommerziell angeboten von vielfältigen Einrichtungen, wachsenden Zuspruch. Rege Anwendung findet die Laktatleistungsdiagnostik quer durch die verschiedenen, ausdauerbetonten Sportarten wie z.B. Fußball, Leichtathletik, Biathlon und besitzt somit einen elementaren Stellenwert.

Jedoch muss diesbezüglich die sich zunehmend unter forschenden Wissenschaftlern nährende Kritik am Schwellenkonzept erwähnt und diskutiert werden.

In diesem Kontext sind es einige wesentliche Punkte, auf denen die Kritik am gegenwärtigen Konzept einer Laktatschwelle im Belastungsverlauf fußt. Es wird beispielsweise davon ausgegangen, dass die Zunahme des anaeroben Stoffwechsels und damit die Energiegewinnung über die Glykolyse bei höheren Belastungsintensitäten nur den kleineren Anteil an der Gesamtenergiegewinnung ausmacht und somit der aerobe Schenkel zur ATP – Synthese auch bei hohen Belastungen überwiegt [73]. Weiterhin wird angemerkt, dass eine Änderung der Ausdauerleistungsfähigkeit nicht nur die Schwelle zu höheren oder tieferen Leistungsspektren verändert, sondern die komplette Laktatleistungskurve, wodurch eben jeder Punkt nach rechts oder links verschoben wird. Deshalb ist zu konstatieren, dass Laktatschwellen als spezielle Punkte der Laktatleistungskurve keinen höheren Stellenwert für Leistungsdiagnostik und Trainingssteuerung haben als andere Punkte im steilen Teil der Kurve [73, 74]. Es wird allerdings auch deutlich gemacht, dass die Laktatdiagnostik deshalb nicht verworfen werden muss, doch Bedeutung und Physiologie des Laktats noch genauer ergründet werden sollten. Wahl et al. [74] fügen an, dass die oft nur geringen Leistungssteigerungen, besonders im Leistungssport, über nur einen Parameter, wie Laktat, zu erfassen, nahezu unmöglich erscheint. Diesbezüglich sind es zu viele Einflussfaktoren, die ausschlaggebend für den Verlauf der Laktatleistungskurve sind. Endogene Einflussfaktoren sind beispielsweise Laktatproduktion, -elimination, -transportraten, -dehydrogenase-Verteilung etc. [69]. Des Weiteren wird ausgesagt, dass man weniger von einer Schwelle als vielmehr von einem Zeitfenster ausgeht, in dem die Laktatproduktion die Eliminations- und Verwertungskapazität übersteigt. Zudem wurde in vergangenen Arbeiten das Konzept der Laktatazidose insofern kritisiert, als dass Laktat eher eine Koinzidenz während zellulärer

Azidose aufweist. Allerdings stellt es eher einen indirekten Marker und nicht Ursache der azidotischen Stoffwechsellaage dar [75, 76]. Laktat werden mehr und mehr Funktionen außerhalb des Glykogenstoffwechsel zugesprochen, wie z.B. eine Regenerationsfunktion oder auch als Pseudohormon mit ausgeprägter Wirkung im gesamten Organismus [77, 78]. Jedoch ist und bleibt zum gegenwärtigen Zeitpunkt die Laktatdiagnostik eine der führenden Methoden in der Bestimmung der anaeroben Schwelle bzw. zum Leistungsstandvergleich im Zuge von Trainingsmaßnahmen.

1.4.4 Laktat und Ammoniak

Im Stufentest ist für Ammoniak ein ähnliches Verhalten wie für Laktat gezeigt worden [39]. Diesbezüglich sei allerdings anzumerken, dass Ammoniak zwar ein ebenso langsames Anstiegsverhalten wie Laktat aufweist, jedoch im Gegensatz dazu früher zu Akkumulation neigt. Im Konkreten bedeutet dies etwa eine Anreicherung bei „60% der Maximalleistung bzw. 20-30 Watt unterhalb des maximalen Laktat-steady-state“ [39].

Weiterhin unterscheidet sich der Verlauf bei Glykogenverarmung, infolge derer sich das Laktat unter gleicher Belastung verringert, wohingegen Ammoniak deutlich erhöhte Werte anzeigt (Abb.4).

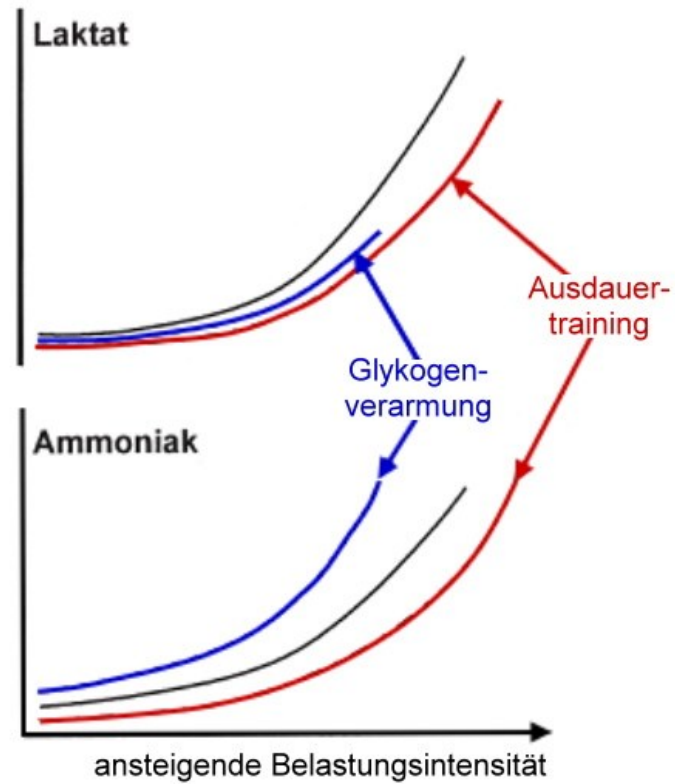


Abb.4: Schematische Darstellung des Ammoniak- und Laktatverhaltens im Stufentest bei Glykogenmangel und nach verbesserter Leistungsfähigkeit durch ein Ausdauertraining modifiziert nach [39]

1.5 Ziel der Arbeit und zentrale Fragestellungen

Die Intention der Studie war es, Konzentrationsänderungen volatiler Substanzen in der Ausatemluft mittels Echtzeit-Massenspektrometrie unter fahrradergometrischer Belastung zu untersuchen. Basierend auf diesen Ergebnissen sollte geklärt werden, ob endogen erzeugte Atemgasmarker sich dazu eignen könnten, ein nicht-invasives Messverfahren zur Detektion des aerob-anaeroben Stoffwechselübergangs zu etablieren.

Im Einzelnen wurden folgende Fragestellungen in den Fokus gestellt:

1. Können volatile Biomarker mit Hilfe eines PTR-MS unter ergometrischer Belastung kontinuierlich und atemzug aufgelöst gemessen werden?
2. Welche belastungsbedingten Änderungen zeigen die erfassten volatilen Biomarker?
3. Welche Zusammenhänge bestehen zwischen physiologischen Parametern wie $\dot{V}O_2$, $\dot{V}CO_2$, Atemminutenvolumen, respiratorischem Quotienten und volatilen Atemgasmarkern?
4. Welche metabolische Information erhält man durch die kontinuierliche Messung der Atemluftbestandteile Isopren, Aceton, Ammoniak, Acetaldehyd?
5. Besteht eine Möglichkeit der Detektion der anaeroben Schwelle mittels volatiler Atemgasbestandteile?

2 Material und Methoden

2.1 Probanden

Es wurden insgesamt 15 männliche und 13 weibliche, gesunde Probanden mit einem Durchschnittsalter von $24,9 \pm 4,7$ Jahren untersucht. Alle Testpersonen wurden vor dem Test über Vorbereitung, Durchführung, Untersuchungsziel und mögliche Risiken informiert und gaben ihr Einverständnis zur freiwilligen Teilnahme. Zunächst wurde eine Pilotstudie mit 7 Probanden durchgeführt, um ein geeignetes Setting zu entwickeln. Die Hauptstudie erfolgte mit 21 Testpersonen (Tab. 2), die ausschließlich in dieser Arbeit Berücksichtigung fanden. Die Probanden wurden darüber unterrichtet 48 Stunden vor dem Test keinen Alkohol zu trinken, 2-3 Stunden vorher keine Mahlzeit zu sich zu nehmen und nicht zu rauchen. Weiterhin sollten keine anstrengenden Belastungen in den Tagen vor Testdurchführung stattfinden.

Proband	Geschlecht	Alter [Jahre]	Gewicht [kg]	Größe [m]
P01	m	25	66	1,85
P02	w	27	68	1,73
P03	w	23	56	1,62
P04	w	20	67	1,70
P05	w	27	65	1,78
P06	w	23	54	1,62
P07	w	26	54	1,68
P08	m	24	74	1,84
P09	w	25	69	1,74
P10	m	26	98	1,88
P11	m	31	69	1,77
P12	w	21	55	1,67
P13	w	36	65	1,72
P14	w	22	58	1,68
P15	m	26	102	1,90
P16	m	42	83	1,80
P17	m	23	78	1,78
P18	w	26	53	1,77
P19	w	20	61	1,66
P20	m	22	81	1,80
P21	w	22	55	1,71
Mittelwert	13w, 8m	25,6	68,1	1,75
Standardabweichung		5,3	13,9	0,08

Tabelle 2: Probandendaten

2.2 Studiendesign

Der Messarbeitsplatz bestand aus einem professionellen Fahrradergometer, einem PTR-MS zur Messung der volatilen Substanzen in der Ausatemluft, einem Computer zur Erfassung der telemetrisch übermittelten spiroergometrischen Daten, einem Laktatmessgerät zur sofortigen Messung der Blutlaktatkonzentrationen sowie einer Pulsuhr zur Herzfrequenzmessung (Abb.5).

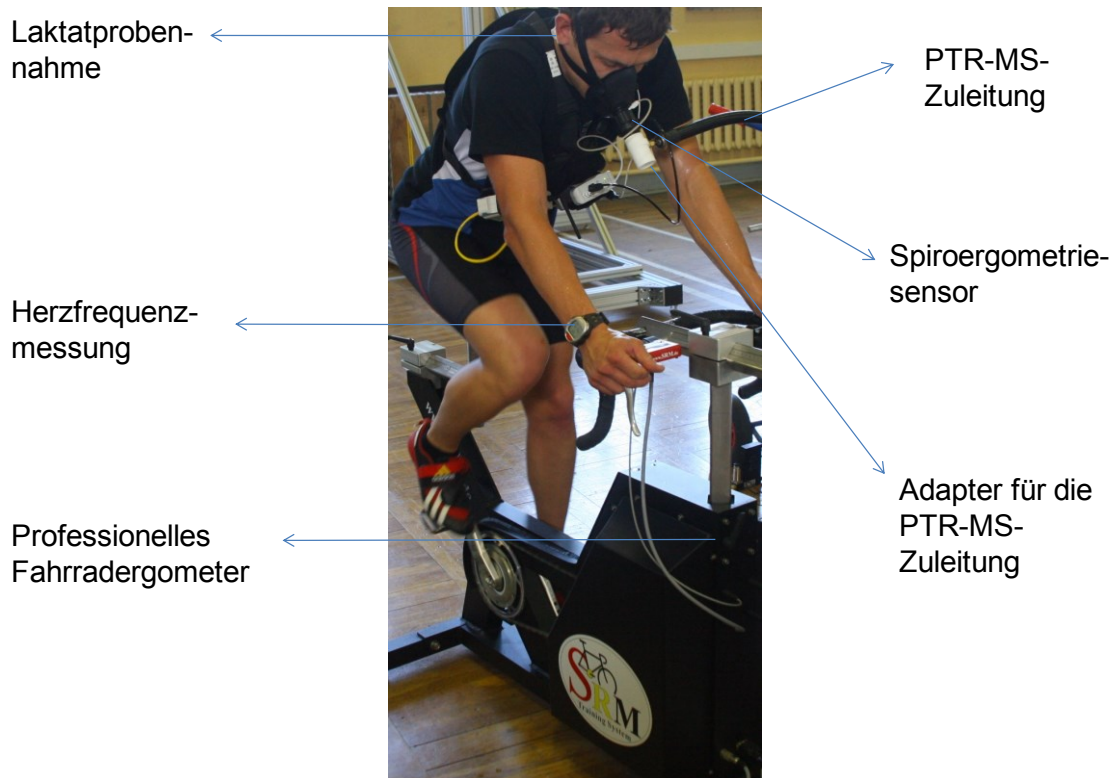


Abb. 5: Versuchsaufbau

2.3 Testablauf

Am Testtag wurden die Probanden gebeten mindestens 30 Minuten vor Beginn des Leistungstests zu erscheinen, um zum einen nochmals eine kurze Anamnese durchführen zu können sowie den Testablauf zu erklären und zum anderen die verschiedenen Messinstrumente zu positionieren bzw. untersuchungsbezogene Vorbereitungen zu treffen. Dazu gehörten sowohl individuelle fahrradergometrische Einstellungen, Anlegen des Brustgurtes zur Herzfrequenzmessung bzw. des Schultergurtsystems mit Analysegerät der portablen Spirometrie als auch das Einreiben des Ohres zur Arterialisierung des kapillaren

Blutes mit Finalgon (Finalgon®, Thomae, Biberach, Deutschland). Daraufhin nahm der Proband seine Testposition auf dem Fahrradergometer ein. Hierbei wurden bereits diverse Ruhewerte u.a. für die zu untersuchenden volatilen Atemgasbestandteile, sowie für Laktat und die Herzfrequenz (HF) gemessen. Nach dieser fünf-minütigen Ruhephase begann das Stufenprotokoll mit der Erwärmungsstufe von 40 Watt für 5 Minuten. Die Probanden wurden angehalten 80 Umdrehungen pro Minute zu treten. Die erste Belastungsstufe betrug 60 Watt für 3 Minuten. Jeweils nach drei-minütiger Belastung kam es zu einer Steigerung um 20 Watt bis zur subjektiven Ausbelastung. Der Testabbruch erfolgte, wenn die Probanden die vorgegebene Trittfrequenz nicht mehr aufrechterhalten konnten. Die Laktatabnahmen fanden stets kurz vor Ende (die letzten 30 Sekunden) der jeweiligen Leistungsstufe statt. Spiroergometrische Werte und die Herzfrequenz wurden alle fünf Sekunden, massenspektrometrische Werte kontinuierlich gemessen. Im Anschluss an den Stufentest blieb der Proband für weitere 10 Minuten auf dem Fahrradergometer sitzen. Laktat und Herzfrequenz wurden jeweils bei Belastungsabbruch sowie am Ende der 3., 5. und 10. Minute nach Belastung dokumentiert (Tab.3).

Testphase	Dauer	Messungen/Besonderheiten
Ruhephase vor Belastung	5 min	Ruhewerte für HF, Laktat, Beginn der kontinuierlichen PTR-Messung
Erwärmungsphase 40 W	5 min	Beginn der Spirometriemessung, Laktatabnahme und HF-Dokumentation am Ende der Erwärmung
Stufentestbeginn		
1. Stufe 60 W	3 min	Laktat- und HF-Messung jeweils am Ende der Stufe, Belastung bis zur subjektiven Erschöpfung
2. Stufe 80 W	3 min	s. oben
x. Stufe y W	3 min	
Abbruch der Belastung		Laktat -und HF-Messung direkt bei Abbruch
Nachbelastungsphase		
3.min	10 min	Laktat -und HF-Messung am Ende der jeweiligen Minute
5.min		
10.min		

Tabelle 3: Testablauf

2.4 Messmethoden

2.4.1 Chemisch-analytische Messmethodik

Die alveolären Konzentrationen der volatilen Substanzen Isopren, Aceton, Ammoniak und Acetaldehyd wurden mittels eines PTR-MS (Ionicon Analytik GmbH, Innsbruck) kontinuierlich online gemessen. Dabei bediente man sich dem Prinzip der Protonen-Transfer-Reaktion zur chemischen Ionisierung volatiler flüchtiger Bestandteile der Atemluft. Mit dieser Methode ist es möglich Konzentrationen im ppm- (10^{-6}) bis ppt- (10^{-12}) Bereich nachzuweisen. Das PTR-MS besteht aus 3 wesentlichen Bestandteilen: einer Ionenquelle, einer sogenannten drift tube (Reaktionskammer) und einer Kammer zur Detektion der Ionen (Abb.7). In der Ionenquelle werden Primärionen (H_3O^+) durch eine Hohlkathodenentladung aus Wasserdampf erzeugt. In der Reaktionskammer kommt es zu der Protonen-Transfer-Reaktion zwischen gebildeten Primärionen und Atemluftbestandteilen (Abb.6). Als Voraussetzung für den Protonenaustausch muss die Protonenaffinität der zu analysierenden Substanz größer sein als die des Wassers. In diesem Zusammenhang ist zu beachten, dass weitere Ionen in der Ionisationskammer, wie z.B. O_2^+ und sogenannte Wasser-Cluster $\text{H}_3\text{O}(\text{H}_2\text{O})_n^+$ gebildet werden, die in der Studie zur Identifikation der Alveolarphase in der Ausatemluft genutzt wurden. Anschließend erfolgt eine Detektion durch ein Quadrupol-Massenspektrometer anhand des charakteristischen Verhältnisses Masse zu Ladung (m/z , dimensionslos, Massezahl dividiert durch Ladungszahl). Anhand des charakteristischen m/z des jeweiligen Atemgasbestandteils (z.B. Aceton m/z 59) wird eine selektive Detektion der protonierten Substanzen möglich. Die gemessenen Signale spiegeln sich als sogenannte count/s wider [79, 80]. Aufgrund einer Kalibrierung des PTR-MS mit Hilfe eines standardisierten Gasgemisches war es möglich von count/s auf die Konzentration zu schließen.

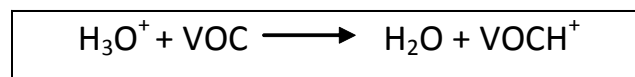


Abb. 6: chemische Reaktion im PTR-MS [81]

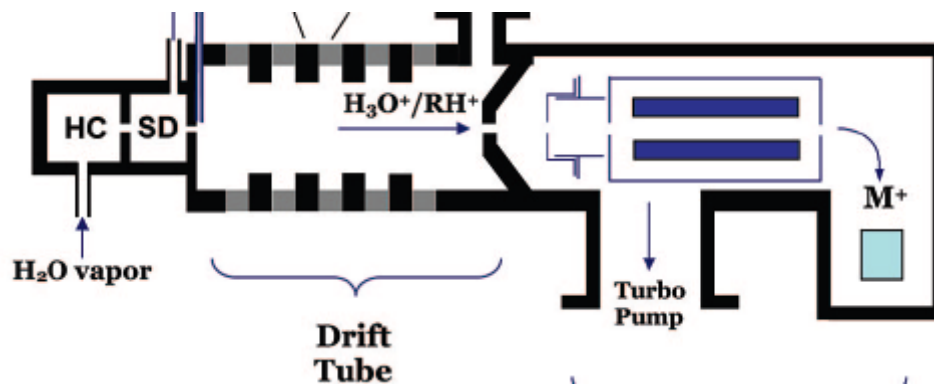


Abb. 7: Innerer Aufbau des PTR-MS ; modifiziert nach [82]

2.4.1.1 Identifikation der Inspirations– und der alveolären Expirationsphase

Eine wesentliche Grundlage in der Atemgasanalyse stellt die Identifikation der alveolären Expirationsphase dar, um so zwischen In – und Expirationsluft zu differenzieren und damit die Voraussetzung zu schaffen, etwaige metabolische Prozesse des Organismus und deren Veränderungen untersuchen zu können. Das bedeutet, dass für die Konzentrationsänderungsmessung von VOCs, die ihren Ursprung im Stoffwechsel haben, keine gemischt-expiratorische Luft (gemischt = Alveolarluft + Totraumluft), sondern allein die alveolar expiratorische Luft für diese Zwecke aussagekräftig ist [6].

In der Regel orientiert man sich zur Unterscheidung zwischen In- und Expiration an der CO₂-Kurve. Eine CO₂-Messung mittels PTR-MS ist allerdings aufgrund der zu geringen Protonenaffinität nicht möglich. Deshalb wurde zur Bestimmung der Alveolarphase der Wassergehalt des Atemgases verwendet. Da die Expirationsphase 6% mehr Wasserdampf als die Inspirationsphase beinhaltet kann über den gemessenen Wasser-Cluster (m/z - Ratio 37) eine Differenzierung zwischen den beiden Phasen erfolgen. Zur definitiven Festlegung der Alveolarphase wurde ein Algorithmus entwickelt. Dieser besagt, dass nur die Werte für einen Atemzyklus als alveolär expiratorisch angenommen wurden, bei denen erstens das Einzelsignal für m/z 37 größer war als das Mittel aus den m/z 37 Signalen eines jeden Messzyklus (zur Unterscheidung zwischen In- und Expiration) und zweitens der Konzentrationsanstieg von $H_3O^+H_2O$ nicht größer war als ein fixer Wert von 2,5% (zur Ermittlung der alveolaren Phase). Bei Konzentrationsveränderungen mit Werten $> 2,5\%$ wurde davon ausgegangen, dass die Messung im Anstieg des Expirationszyklus und damit nicht in der alveolaren Plateauphase lag [81] (Abb.8, Abb.9).

Expiratorische Phase:

$$1. \text{Masse } 37_{1.} > \text{Mittel} (\sum \text{Masse } 37_{1.} + \sum \text{Masse } 37_{2.})$$

$$2. \text{Gradient} < 2,5 \%$$

$$|\text{Gradient}| = \left[\frac{\text{Masse } 37_{1.} - \text{Masse } 37_{2.}}{\text{Masse } 37_{1.} + \text{Masse } 37_{2.}} \right] \times 2$$

Inspiratorische Phase:

$$1. \text{Masse } 37_{1.} < \text{Mittel} (\sum \text{Masse } 37_{1.} + \sum \text{Masse } 37_{2.})$$

$$2. \text{Gradient} < 2,5 \%$$

$$|\text{Gradient}| = \left[\frac{\text{Masse } 37_{1.} - \text{Masse } 37_{2.}}{\text{Masse } 37_{1.} + \text{Masse } 37_{2.}} \right] \times 2$$

Abb. 8: Algorithmus zur Detektion der Inspirations- und der alveolaren Expirationsluft [81]

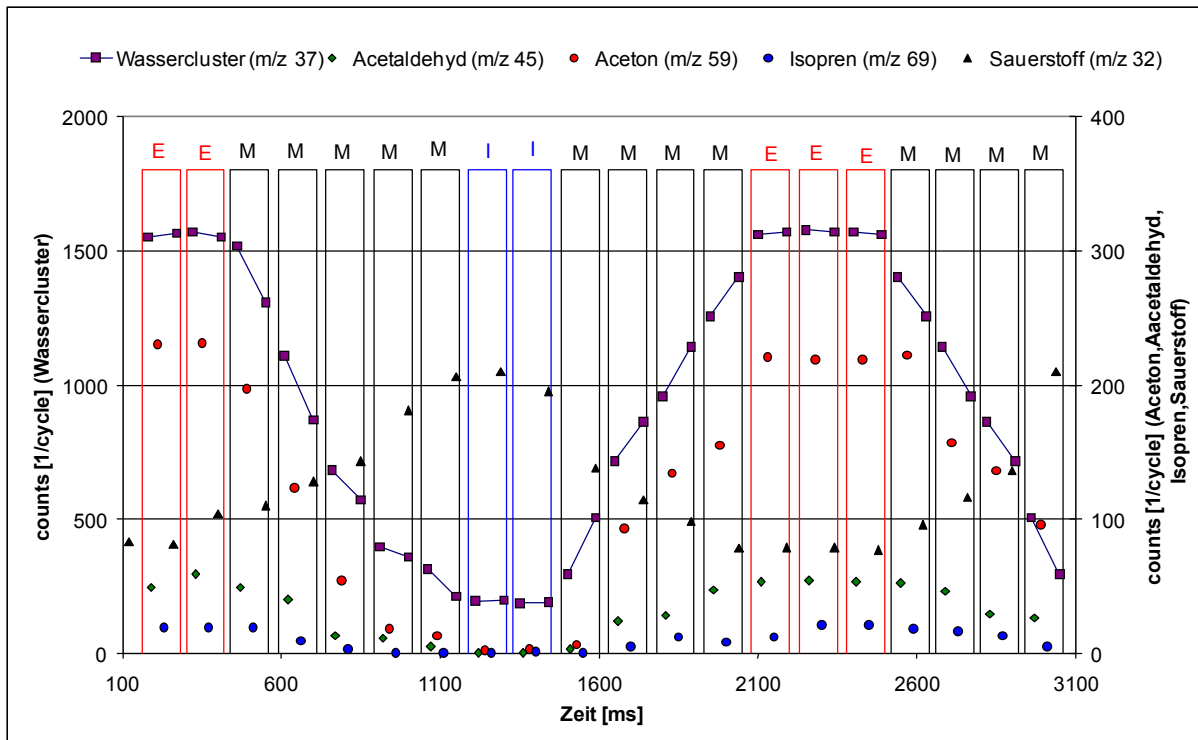


Abb. 9: PTR-MS Signale während mehrerer Messzyklen; Jede Box stellt einen kompletten Messzyklus des Massenspektrometers dar. Signale innerhalb der schwarzen Box (M) kennzeichnen die gemischt-expiratorische Phase, da der absolute Gradient der Wasser-Cluster Signale größer ist als 2,5%. Signale wurden der alveolären Phase (rote Box, E) zugeordnet, wenn der Gradient zwischen erstem und zweitem Wasser-Cluster Signal kleiner als 2,5% und beide Signale größer als der Durchschnitt der gemittelten Wasser-Cluster Signale waren. Die blaue Box (I) stellt die inspiratorische Phase dar (Gradient ist kleiner als 2,5% und beide Wasser-Cluster Signale sind kleiner als der Durchschnitt der gemittelten Werte) [81]

2.4.2 Sportwissenschaftliche Messmethodik

2.4.2.1 Fahrradergometrie

Zur Durchführung des fahrradergometrischen Leistungstests wurde ein professionelles Fahrradergometer (SRM Ergometer, Jülich, Deutschland) verwendet. Sitz- sowie Lenkerhöhe wurden individuell angepasst, um weitgehend komfortable Bedingungen zu ermöglichen. Der Stufentest wurde über die zugehörige Ergometersoftware per Computer eingestellt, so dass die Belastungsstufen nach der jeweiligen Zeit automatisch angepasst wurden.

2.4.2.2 Herzfrequenzmessung

Die Probanden trugen während der gesamten Testzeit einen Brustgurt und eine Pulsuhr (Polar S810iTM, Finnland) zur Herzfrequenzmessung.

2.4.2.3 Laktatmessung

Nachdem die Vorbereitung für die Laktatmessungen (Ohr mit Finalgon einreiben und Equipment bereit stellen) erfolgt war, fand die Analyse der Laktatproben photometrisch statt (Miniphotometer Plus LP 20, DR Lange, Deutschland). Dafür wurden unter initialer Zuhilfenahme einer Lanzette 10 µl arterialisiertes Kapillarblut aus dem Ohr zu den jeweiligen Messpunkten entnommen, sofort analysiert und die entsprechenden Werte dokumentiert. Im Anschluss an den Leistungstest wurde eine Bestimmung der aerob- anaeroben Laktatschwelle durchgeführt. Hierfür kamen verschiedene sportwissenschaftlich gängige Methoden zur Anwendung. Besonderen Fokus richtete man dabei auf die Methoden nach Dickhuth und Stegmann.

2.4.2.4 Spirometrie

Zur Ermittlung der spirometrischen Daten wie $\dot{V}O_2$ -Aufnahme, $\dot{V}CO_2$ -Abgabe, Atemminutenvolumen, Atemfrequenz, respiratorischer Quotient und Atemäquivalent wurde das Oxycon Mobile System (CareFusion, Höchberg, Deutschland) verwendet. Dieses stellt ein portables System dar, bestehend aus Gesichtsmaske mit einem elektrochemischen Sensor (Triple V-Sensor) zur breath-by-breath- Messung der genannten Volumina, einem

Brustgurt mit Geräteeinheit und einer Telemetrieinheit mit zusätzlicher Kalibrierfunktion. Die Messgenauigkeit für Volumenmessungen beträgt beim Oxycon Mobile 50 ml.

2.5 Statistik

2.5.1 Mittelwertberechnung

Alle gemessenen Daten wurden für die jeweilige Minute gemittelt. Dabei wurden für die verschiedenen Parameter unterschiedlich viele Datenpunkte pro Minute einbezogen. Konkretisierend bedeutet diese Tatsache, dass beispielsweise bei der Spirometrie aufgrund einer fünfsekündigen Messung 12 Werte/min gemessen wurden und zur Durchschnittsberechnung für die jeweilige Minute demzufolge 12 Werte herangezogen werden konnten. Analog dazu wurden die massenspektrometrisch erfassten Daten für Isopren, Aceton, Ammoniak und Acetaldehyd pro Minute gemittelt. Dabei variierten allerdings die Datenpunkte von Minute zu Minute abhängig von vorher festgelegten Triggerschwellen, so dass eine Mittelung pro Minute aus sechs bis dreißig einzelnen, gemessenen Werten bestand.

2.5.2 Normierung

Aufgrund unterschiedlicher interindividueller metabolischer Verhältnisse wurde eine Normierung der massenspektrometrisch gemessenen Werte unter Belastung auf den individuellen Ruhewert vor der Erwärmung durchgeführt, um so mittels Relativwerten Veränderungen der volatilen Marker unter den einzelnen Testpersonen vergleichbarer zu machen.

Zur Auftragung der gemittelten Kurve von Laktat und Aceton wurden auch für Laktat relative, normierte Werte verwendet, wohingegen für die Darstellung von Aceton und RER für RER keine normierten Werte benutzt werden konnten, da die Spirometrie erst mit Belastungsbeginn gestartet wurde.

2.5.3 Berechnung der relativen Arbeit

Um eine annähernd gute Vergleichbarkeit der Probanden zu sichern, wurde für jede einzelne Testperson und deren Maximalleistung die relative Arbeit berechnet. Dafür war es

notwendig für jede Belastungsminute die individuelle Arbeit zu bestimmen und den prozentualen Anteil an der Gesamtarbeit anzugeben (Tab.4).

Watt	Zeit in s	Arbeit in J pro Minute	gesamte Arbeit in J (kumulativ)	relative Arbeit in %
40	60	2400	2400	4
40	60	2400	4800	9
40	60	2400	7200	13
40	60	2400	9600	17
40	60	2400	12000	22
60	60	3600	15600	28
60	60	3600	19200	35
60	60	3600	22800	41
80	60	4800	27600	50
80	60	4800	32400	59
80	60	4800	37200	67
100	60	6000	43200	78
100	60	6000	49200	89
100	60	6000	55200	100

Tabelle 4: Beispiel für die Ermittlung der relativen Arbeit

Entsprechend konnte man die Leistungsbereiche wie folgt festlegen: 0-10% maximale Arbeit, 11-20% maximale Arbeit etc. . Jeder Proband hatte massenspektrometrisch gemessene Werte für die volatilen Parameter, welche den jeweiligen Leistungsbereichen zugeordnet werden konnten. Damit war die Voraussetzung gegeben, gemittelte Wertekurven aller Probanden von Isopren, Aceton und Ammoniak darzustellen.

2.5.4 Berechnung der Acetonschwellen

Zur Bestimmung und Darstellung der Acetonschwellen wurden SigmaStat und SigmaPlot verwendet. Anhand der ausgeatmeten Acetonkonzentrationen wurde eine polynomische Regression dritter Ordnung durchgeführt. Die IAS wurde als erstes Maximum der Regressionskurve definiert. Dafür wurde die erste Ableitung berechnet und der Schnittpunkt mit der x-Achse für den genauen Zeitpunkt der IAS herangezogen. Der sich anschließende Vergleich der IAS ermittelt aus der Dickhuth-Methode und der neu konzipierten Aceton-Methode wurde als Bland-Altman-Plot dargestellt.

3 Ergebnisse

3.1 Blutlaktatkonzentrationen

Die Laktatkonzentrationskurve zeigt bei fast allen Probanden eine stete Zunahme der kapillären Blutlaktatkonzentration. Jedoch sind besonders die Anfangskonzentrationen aufgrund einer kleinen Belastungssteigerung teilweise ohne signifikanten Anstieg. Für 20 der 21 Probanden konnte die individuelle anaerobe Schwelle für Laktat anhand der Dickhuth-Methode bestimmt werden, so dass die folgenden Werte für die IAS stets auf diese Bezug nehmen. Bei einem Probanden gelang keine Bestimmung der IAS nach Dickhuth aufgrund technischer Probleme bei der Laktatbestimmung.

3.1.1 Blutlaktatkonzentrationen der Probanden zu verschiedenen Testzeiten

Die folgende Tabelle (Tab.5) gibt über die gemessenen Laktatkonzentrationen im arterialisierten, kapillären Blut in Ruhe, an der IAS, bei Abbruch, sowie über die maximale Laktatkonzentration Aufschluss. Hierbei bleibt zu konstatieren, dass 6 von 21 Probanden (ein Proband zeigt keine verwertbaren Laktatkonzentrationen) ihre Maximalwerte für Laktat erst nach Abbruch der Belastung erreichten.

Proband	Laktatkonz. - Ruhe	Laktatkonz. - IAS	Laktatkonz. - Abbruch	Laktatkonz. - Maximal
P01	1,19	5,02	14,90	15,20
P02	1,93	2,90	12,80	12,80
P03	1,49	6,08	10,40	10,40
P04	2,39	2,80	12,00	12,00
P05	1,25	2,80	10,80	10,80
P06	0,96	3,87	6,57	6,57
P07			6,99	
P08	1,47	3,02	10,20	10,50
P09	1,40	2,90	9,67	9,97
P10	1,23	2,73	6,82	6,82
P11	1,01	2,53	12,90	12,90
P12	1,72	4,65	11,40	11,60
P13	1,03	4,71	9,61	9,61
P14	1,02	3,86	6,69	6,69
P15	0,93	3,19	9,35	9,35
P16	1,01	3,00	9,46	10,70
P17	1,68	3,35	12,50	12,50
P18	1,49	3,07	8,40	8,40
P19	1,21	3,55	10,50	10,70
P20	2,35	4,32	9,82	9,82
P21	0,98	3,29	13,10	13,10
Mittelwert	1,39	3,58	10,23	10,52
Standardabw.	0,44	0,94	2,32	2,27

Tabelle 5: Laktatkonzentrationen in mmol/l in Ruhe, an der IAS, bei Abbruch und maximal

3.2 Leistung

3.2.1 Maximale Leistung

Die absolute maximale Leistung, die durch einen Probanden erreicht wurde, betrug 240 Watt. Die relative maximale Leistung, welche bezogen auf das jeweilige Körpergewicht berechnet wurde, betrug 4,15 Watt/kg Körpergewicht (Tab.6).

3.2.2 Leistung an der individuellen anaeroben Schwelle (IAS)

Die Leistung der Testpersonen, die an der IAS abgerufen wurde, unterscheidet sich um exakt 100 Watt, so beträgt die absolute minimale Leistung aller Probanden an der IAS 100 Watt und die absolute maximale Leistung 200 Watt.

Ergebnisse

Proband	Watt (absolut)	Watt (relativ, Watt/kg KG)	Watt (absolut) - IAS	Watt (relativ, Watt/kg KG) - IAS
P01	160	2,42	140	2,12
P02	180	2,65	140	2,06
P03	100	1,79	100	1,79
P04	180	2,69	140	2,09
P05	180	2,77	140	2,15
P06	180	3,33	160	2,96
P07	140	2,59	120	2,22
P08	240	3,24	180	2,43
P09	180	2,61	160	2,32
P10	220	2,25	180	1,84
P11	220	3,19	160	2,32
P12	140	2,55	100	1,82
P13	120	1,85	100	1,54
P14	120	2,03	100	1,69
P15	200	1,96	140	1,37
P16	200	2,41	160	1,93
P17	200	2,56	140	1,79
P18	220	4,15	200	3,77
P19	200	3,28	180	2,95
P20	240	2,96	160	1,97
P21	140	2,55	100	1,82
Mittelwert	179	2,66	143	2,14
Standardabw.	40	0,57	31	0,54

Tabelle 6: Leistung der Probanden in Watt: absolut, relativ und an der IAS; KG = Körpergewicht

3.3 Herzfrequenz

Während der gesamten Belastungszeit nahm die Herzfrequenz der einzelnen Untersuchungsteilnehmer, bei unterschiedlichem Anstiegsverhalten, kontinuierlich zu. Auffällig hierbei waren stark divergierende Ruheherzfrequenzen in einem Bereich von 50 bis 106/min.

3.3.1 Maximale Herzfrequenz

Die maximale Herzfrequenz erreichten die Probanden wenige Sekunden vor bzw. direkt bei Testabbruch. Dabei betrug die geringste maximale Herzfrequenz aller Probanden 172/min und der höchste gemessene Wert für die Maximalherzfrequenz 200/min (Tab.7).

3.3.2 Herzfrequenz an der IAS

Die niedrigste Herzfrequenz an der IAS hat Proband Nr. 4 mit 144/min und den Maximalwert an der IAS erreichte Proband Nr. 6 mit 184/min.

Proband	HF - Maximal	HF - IAS
P01	183	167
P02	200	180
P03	184	172
P04	172	144
P05	191	171
P06	192	184
P07	188	169
P08	186	164
P09	190	175
P10	177	164
P11	180	161
P12	174	160
P13	191	178
P14	177	170
P15	189	163
P16	188	171
P17	178	155
P18	184	170
P19	184	167
P20	185	162
P21	198	176
Mittelwert	185	168
Standardabw.	7,32	8,97

Tabelle 7: Herzfrequenz aller Probanden:
maximal und an der IAS

3.4 Spiroergometrische Messwerte

Bei den spirometrischen Messparametern wurde der Fokus auf $\dot{V}O_2$, $\dot{V}CO_2$, Atemminutenvolumen, Atemfrequenz und die Werte Atemäquivalent und RER gelegt. In diesem Zusammenhang bleibt zu erwähnen, dass bei 3 der 21 Probanden die Spirometrie im Verlauf des Tests ausfiel, so dass für diese keine Maximalwerte ermittelt werden konnten. Für die soeben genannten Parameter $\dot{V}O_2$, $\dot{V}CO_2$, AMV und AF ließ sich für alle Probanden ein ähnlicher Verlauf im Sinne einer nahezu ständigen Zunahme der Volumina respektive Frequenzen von Belastungsbeginn bis Belastungsabbruch feststellen. Atemäquivalent als auch RER zeigten hingegen im interindividuellen Vergleich größere Variationen mit sehr unterschiedlichem Anstiegsverhalten während des Belastungstests.

3.4.1 Maxima der spirometrischen Parameter

Im Folgenden soll auf die Maxima von $\dot{V}O_2$ der Probanden eingegangen werden, da von den spirometrischen Daten besonders die maximale Sauerstoffaufnahme in der Sportwissenschaft als Leistungsparameter herangezogen wird [44]. Wie bereits oben beschrieben wird dabei zwischen absoluter maximaler Sauerstoffaufnahme in ml/min oder l/min und relativer maximaler Sauerstoffaufnahme in ml/min/kg Körpergewicht oder l/min/kg Körpergewicht unterschieden. Außerdem gibt es für die $\dot{V}O_{2max}$ unterschiedliche Leistungsbewertungen in Abhängigkeit des Geschlechts. Alle weiteren respiratorisch ermittelten Maxima der einzelnen Probanden werden komplettierend in Tabelle 8 aufgeführt.

In der Studie lag der Spitzenwert unter den männlichen Testpersonen für die absolute $\dot{V}O_{2max}$ bei 5138 ml/min (Proband 10) und für die Teilnehmerinnen bei 3592ml/min (Proband 2). Der Höchstwert für die relative maximale Sauerstoffaufnahme der Männer wurde mit 72 ml/min/kg Körpergewicht (Proband 11) und der Frauen mit 58 ml/min/kg (Proband 21) Körpergewicht gemessen.

Proband	VO ₂	VCO ₂	AMV	AF	Atemäquivalent	RER
P01	3637	4328	128	36	0,036	1,21
P02	3592	3913	139	62	0,041	1,13
P03	1719	1888	59	49	0,036	1,15
P04	3263	3628	117	64	0,045	1,41
P05	3168	3589	88	45	0,029	1,16
P06	1952	1967	67	49	0,037	1,08
P07	1881	1698	57	43	0,042	1,17
P08	5020	4673	156	57	0,045	0,98
P09						
P10	5138	4574	150	44	0,031	0,95
P11	4971	5378	151	46	0,034	1,13
P12	3041	3143	101	52	0,033	1,04
P13	2648	2807	88	47	0,036	1,11
P14	2677	2809	103	53	0,039	1,06
P15						
P16						
P17	4624	4614	149	63	0,046	1,48
P18	2863	3125	80	39	0,030	1,11
P19	3021	3201	89	44	0,037	1,21
P20	4650	5068	124	38	0,033	1,10
P21	3232	3667	99	53	0,031	1,16
Mittelwert	3394	3559	108	49	0,037	1,15
Standardabw.	1091	1088	33	8	0,005	0,13

Tabelle 8: absolute Maxima der spirometrischen Messparameter ($\dot{V}O_2$ und $\dot{V}CO_2$ in ml/min, AMV in l/min, AF pro min) aller Probanden

3.5 Volatile Atemgasparameter

Bei der Studie war es möglich, alle vier ausgewählten organischen, volatilen Verbindungen kontinuierlich und zuverlässig über das PTR-MS zu messen. Die Acetaldehydkonzentrationen lagen im Bereich der Nachweisgrenze und waren häufig geringer als die inspiratorischen Konzentrationen. Daher wurde der Fokus der Untersuchungen auf den Konzentrationsverlauf von Isopren, Aceton und Ammoniak gerichtet. Acetaldehyd wird daher in der folgenden Betrachtung keine Rolle mehr spielen. In den Diagrammen erfolgt neben Graphen und zusätzlichen Informationen auch die Darstellung der Standardfehler (SEM). Die gemessenen volatilen Substanzen sind stets auf der Ordinate als normierte Werte, bezogen auf den Ruhewert, abgebildet. Bei Änderung der Achsen wird an gegebener Stelle explizit darauf hingewiesen.

3.5.1 Exemplarische Darstellung eines Probanden

In der folgenden Abbildung 10 wird ein Beispiel für den Konzentrationsverlauf der gemessenen volatilen Bestandteile der Ausatemluft und des Laktats eines einzelnen Probanden dargestellt. Auf der Ordinate sind die auf den Ruhewert normierten Konzentrationen der jeweiligen Ausatemluftsubstanz abgetragen. Hierbei lässt sich bereits eine für alle Probanden geltende Feststellung treffen: Die relativen Änderungen sowohl für Isopren als auch für Ammoniak waren bei allen Testpersonen größer als die für Aceton.

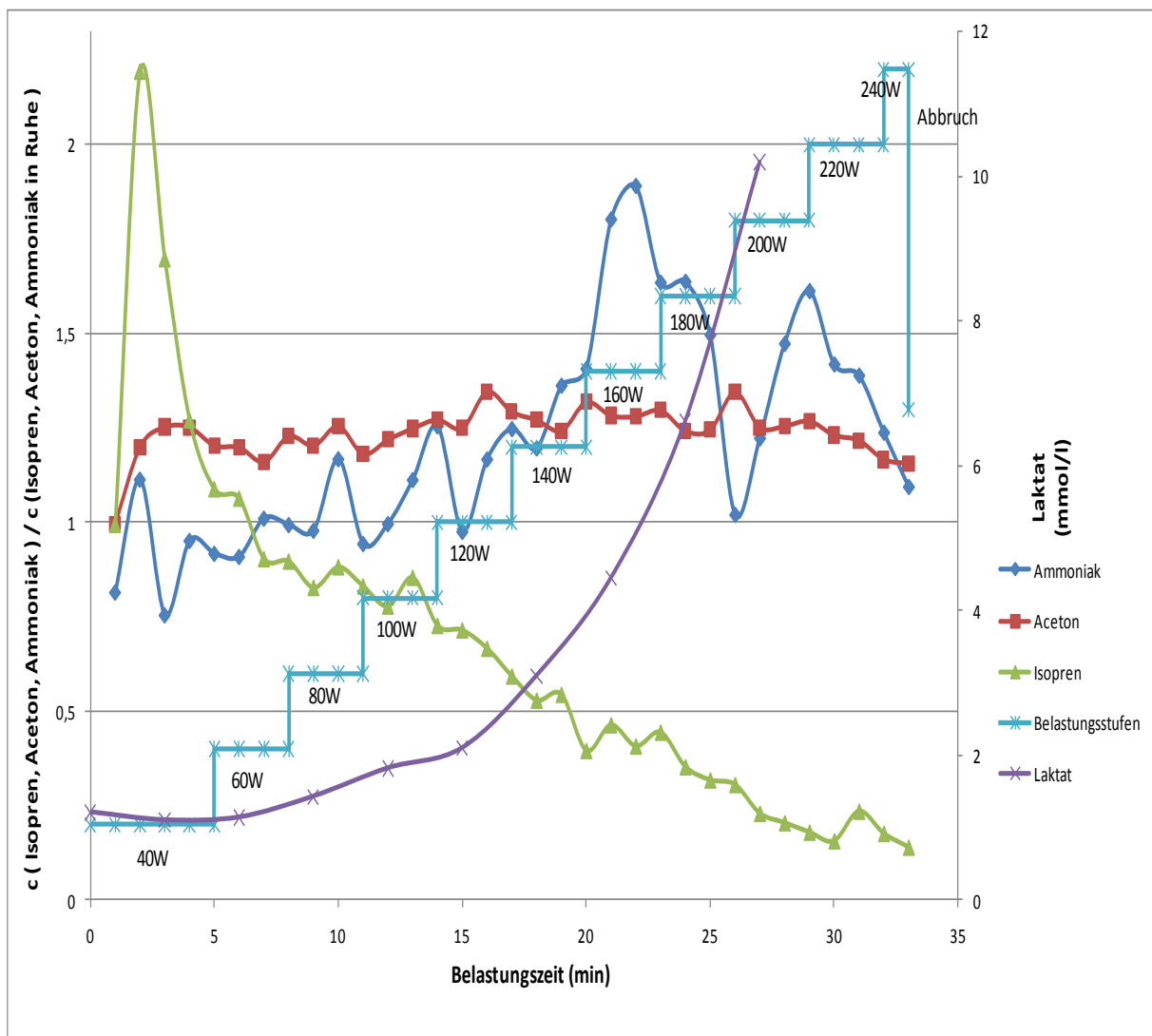


Abb. 10: Normierte Konzentrationen von Ammoniak, Aceton und Isopren sowie Absolutwerte für Laktat während des Belastungstests eines Probanden (Proband 8)

3.5.2 Isopren

3.5.2.1 Isopren und relative Arbeit

Die gemessenen volatilen Bestandteile Isopren, Ammoniak und Aceton wurden in einer Mittelwertkurve in Bezug zur relativen Arbeit dargestellt. In der Abbildung 11 ist zunächst der typische Verlauf des Isoprens mit ausgeprägtem Peak zum Erwärmungsbeginn und der steten Regredienz bis zum Belastungsabbruch dokumentiert.

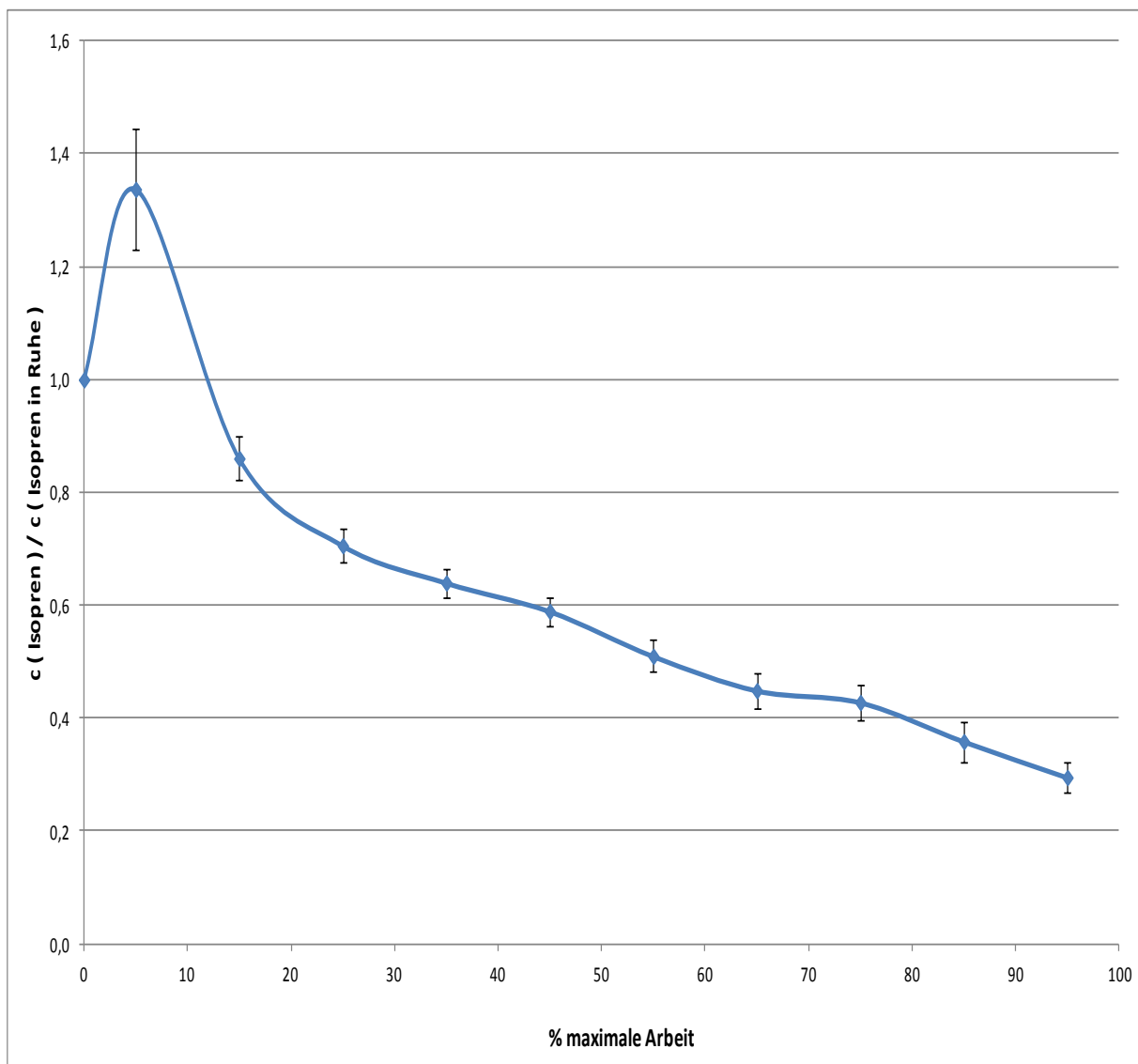


Abb. 11: Normierte, gemittelte Isoprenkonzentrationen \pm SEM aller 21 Probanden in Bezug zur relativen Arbeit

3.5.3 Ammoniak

3.5.3.1 Ammoniak und relative Arbeit

Abbildung 12 zeigt den Konzentrationsverlauf von Ammoniak im Atemgas als gemittelte Kurve von 19 Probanden in Bezug zur relativen Arbeit. Zwei Probanden konnten aufgrund von Messfehlern nicht in die Auswertung einbezogen werden. Bei der Betrachtung des Ergebnisses ist erkennbar, dass es zu einem Anstieg der Ausatemluftkonzentration von Ammoniak bis ca. 45% maximaler Arbeit kommt. Im Folgenden zeigen sich keine derart starken Konzentrationszunahmen als auch -abnahmen bis zum Belastungsabbruch. Die Markierung veranschaulicht einen Bereich, in dem bei 14 der 19 Probanden die IAS mittels Dickhuth detektiert werden konnte.

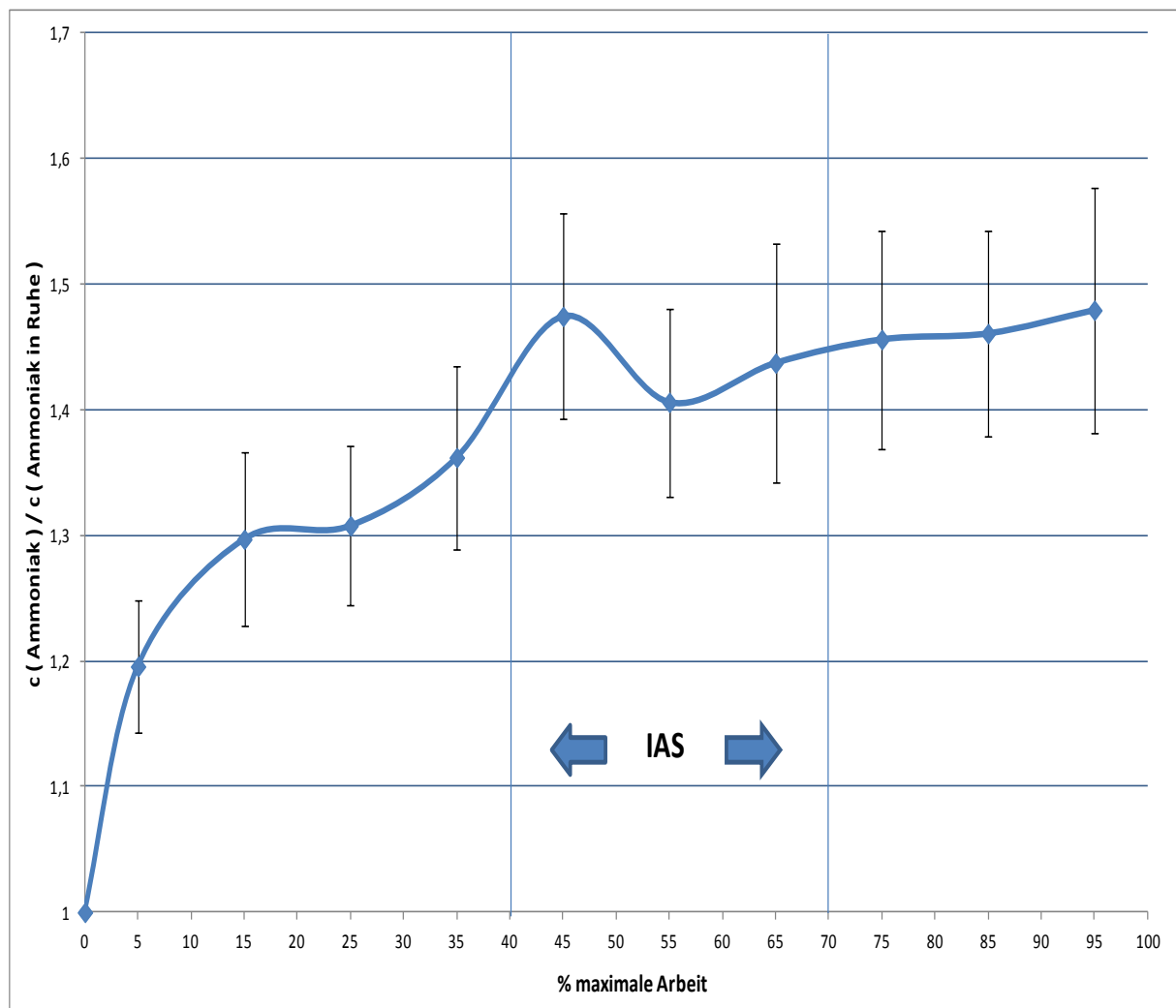


Abb. 12: Normierte, gemittelte Ammoniakkonzentrationen \pm SEM von 19 Probanden in Bezug zur relativen Arbeit

3.5.3.2 Ammoniak in Abhängigkeit der IAS

Die Darstellung der Atemgasammoniakkonzentrationen von 19 Probanden in Abhängigkeit von der IAS zeigt ein Diagramm (Abb. 13), welches ausgehend von Punkt 0 auf der Abszisse die Beziehung von Ammoniak in der Ausatemluft vor und nach der Schwelle widerspiegelt. Dabei stellt der Punkt 0 auf der Abszisse und die dazugehörigen gemittelten, normierten Ammoniakkonzentrationen auf der Ordinate die Ammoniakkonzentration im Atem während des Passierens der entsprechenden Laktatschwelle (nach Dickhuth) dar. Nun wurde beziehend darauf die Ammoniakkonzentration 8 Minuten vor und 6 Minuten nach Erreichen der Laktatschwelle abgetragen. Bis 3 Minuten vor Erreichen der Schwelle sind relativ stabile Atemgaskonzentrationen von Ammoniak zu verzeichnen. In den folgenden Minuten, sowohl vor, bei Überqueren, als auch nach der Schwelle, kommt es zum Anstieg von Ammoniak in der Atemluft auf ein etwas höheres Niveau.

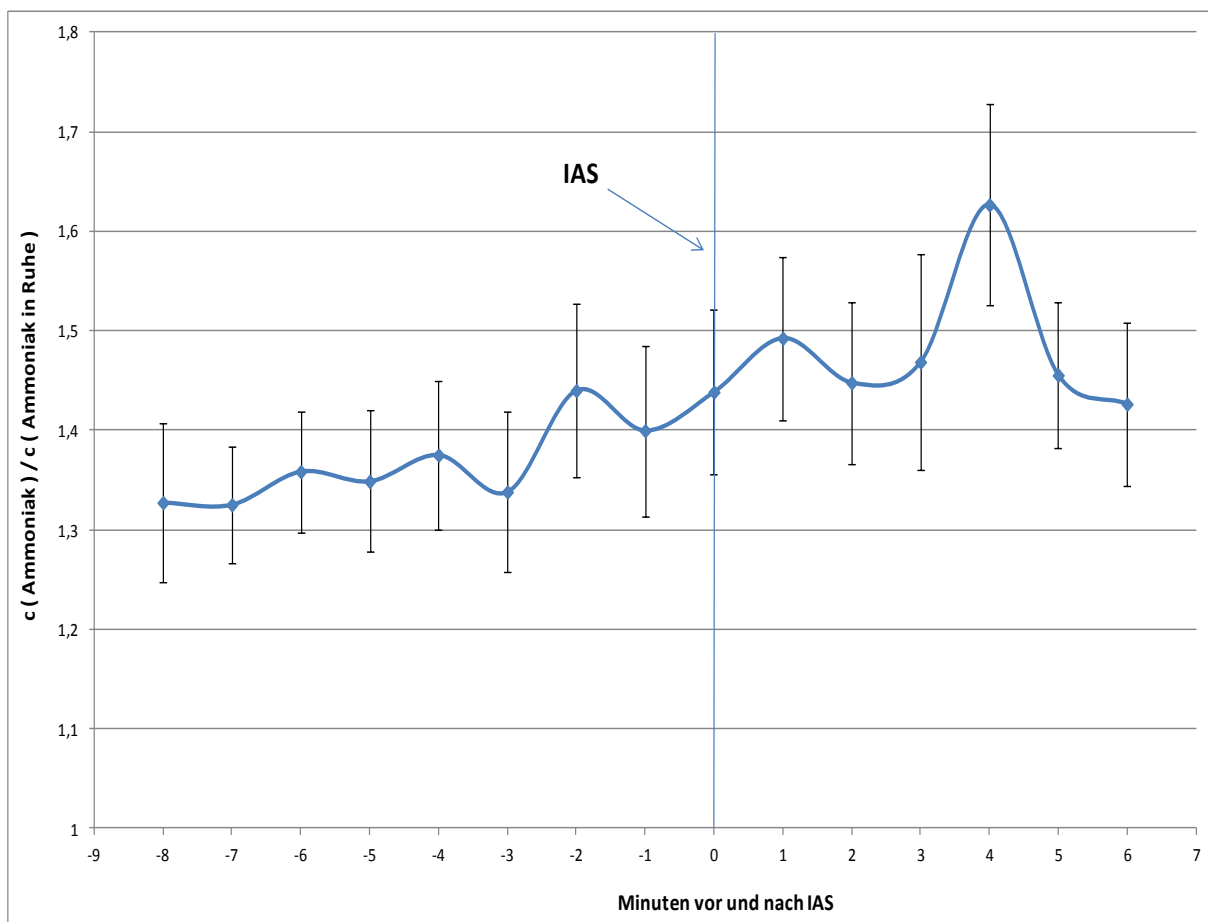


Abb. 13: Normierte, gemittelte Ammoniakkonzentrationen \pm SEM von 19 Probanden in Abhängigkeit von der IAS

3.5.4 Aceton

3.5.4.1 Aceton und relative Arbeit

Eine gemittelte Kurve der Acetonkonzentrationen in der Ausatemluft der Probanden, bezogen auf die verrichtete Arbeit, zeigt einen Anstieg von Erwärmungsbeginn bis etwa 45% maximaler Arbeit. Ab 70% maximaler Arbeit kommt es zur Konzentrationsabnahme in der Ausatemluft (Abb.14).

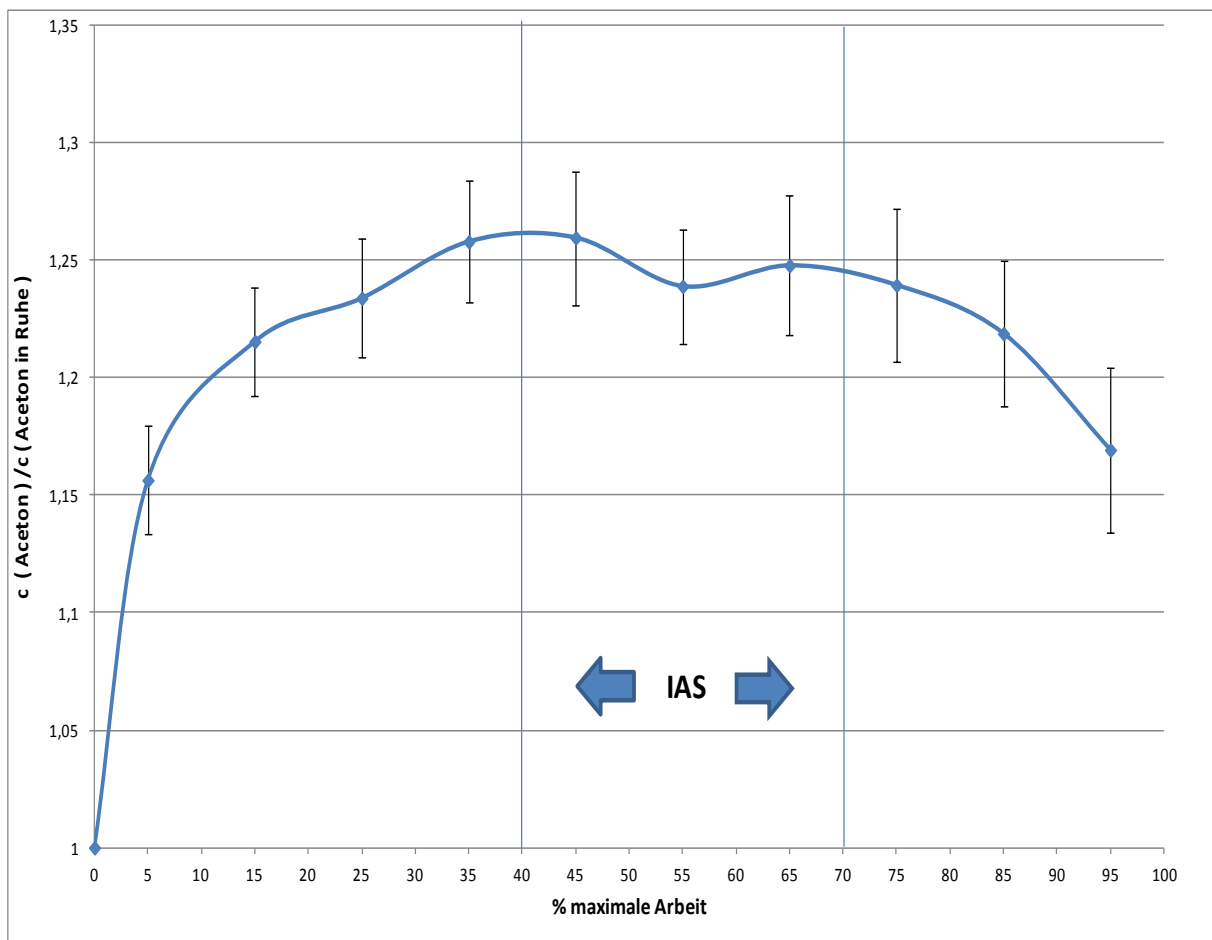


Abb. 14: Normierte, gemittelte Acetonkonzentrationen \pm SEM aller 21 Probanden in Bezug zur relativen Arbeit

3.5.4.2 Aceton in Abhängigkeit der IAS

Analog zu Ammoniak ist in Abbildung 15 eine Darstellungsform für Aceton in Abhängigkeit von der IAS gewählt. Hierbei lässt sich erkennen, dass die Acetonkonzentration in der expiratorischen Phase bis zum Schwellenbereich, der als IAS gekennzeichnet ist, steigt, jedoch daraufhin auf tiefere Werte bis zum Abbruch der Belastung sinkt.

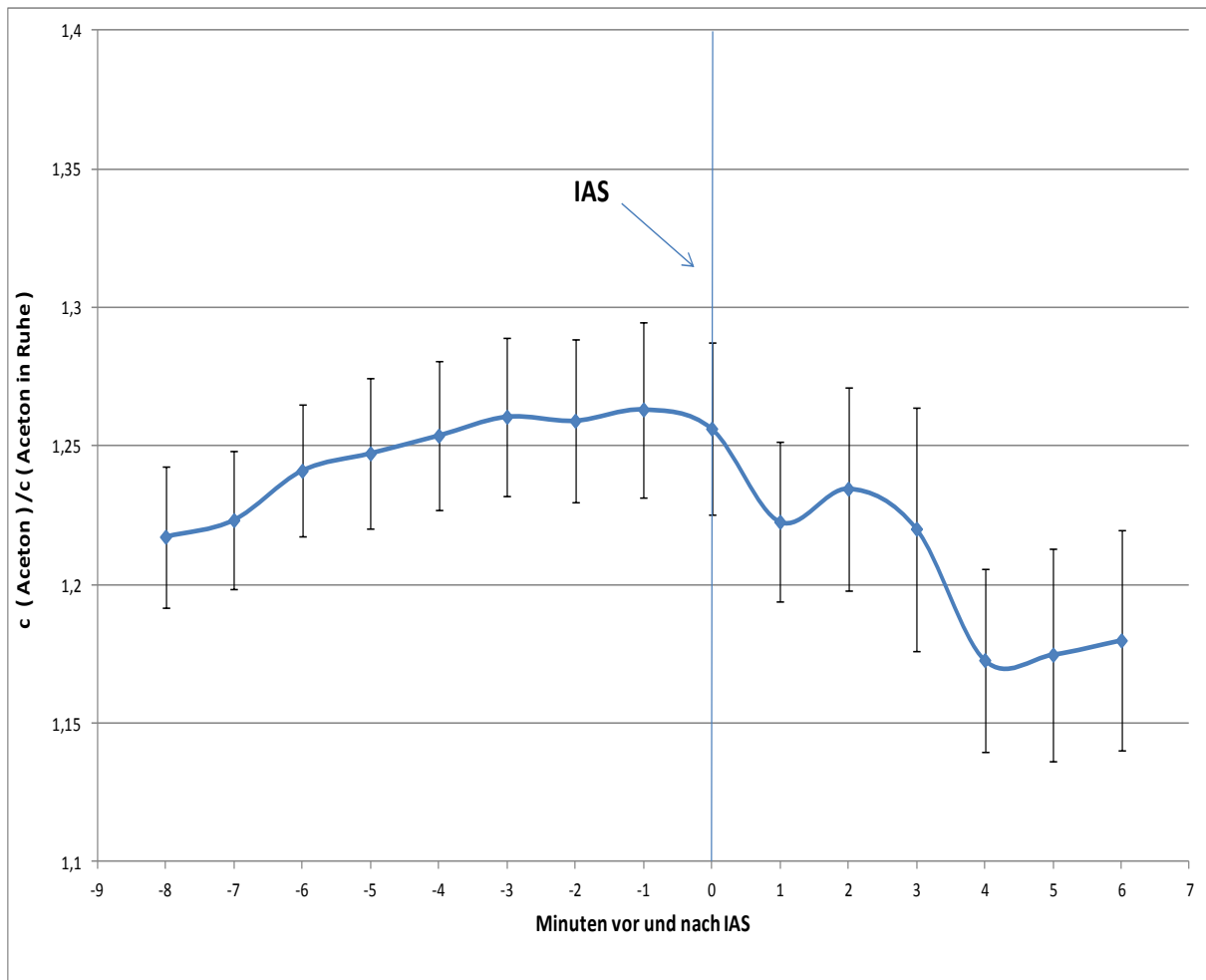


Abb. 15: Normierte, gemittelte Acetonkonzentrationen \pm SEM aller 21 Probanden in Abhängigkeit von der IAS

3.5.4.3 Aceton und RER

Die gemittelte Acetonkurve aller 21 Probanden und die Mittelwertkurve der RER von 18 Probanden in Bezug zur relativen Arbeit sind in Abbildung 16 abgetragen. Beide Kurven verlaufen bis 45% der maximalen Arbeit ähnlich. Ab diesem Punkt divergieren die Kurven in dem Sinne, dass die Acetonkonzentrationen absinken und die RER-Werte deutlich ansteigen.

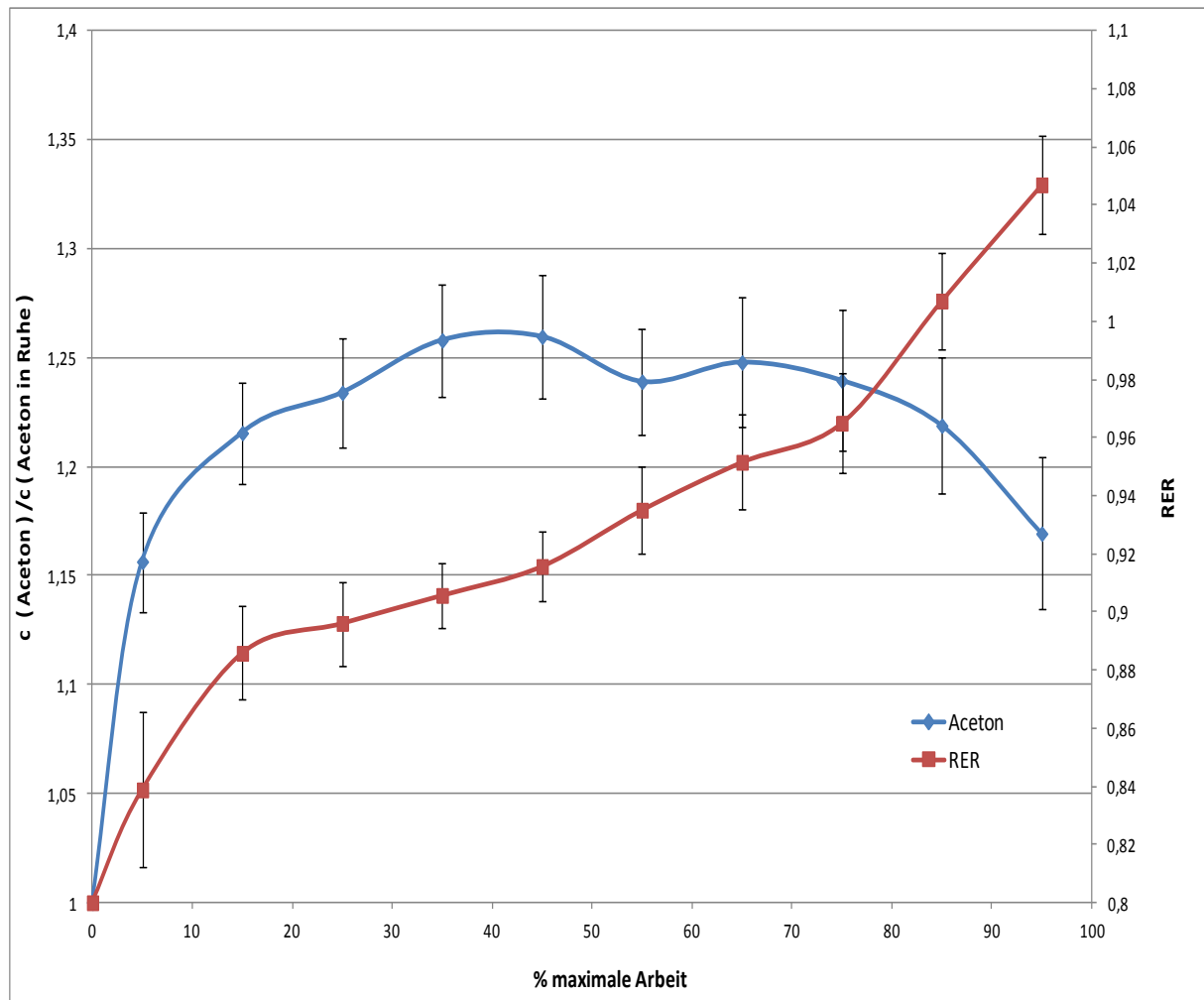


Abb. 16: Normierte, gemittelte Acetonkonzentrationen (21 Probanden) und gemittelte Absolutwerte von RER (18 Probanden) \pm SEM in Bezug zur relativen Arbeit

3.5.4.4 Aceton und Laktat

Die normierten, gemittelten Konzentrationen von Aceton und Laktat bezogen auf die Arbeit sind in Abbildung 17 gegenübergestellt. Die Blutlaktatkonzentrationen zeigen ab 45% maximaler Arbeit ein nahezu entgegengesetztes Verhalten zu den Acetonkonzentrationen in der Ausatemluft.

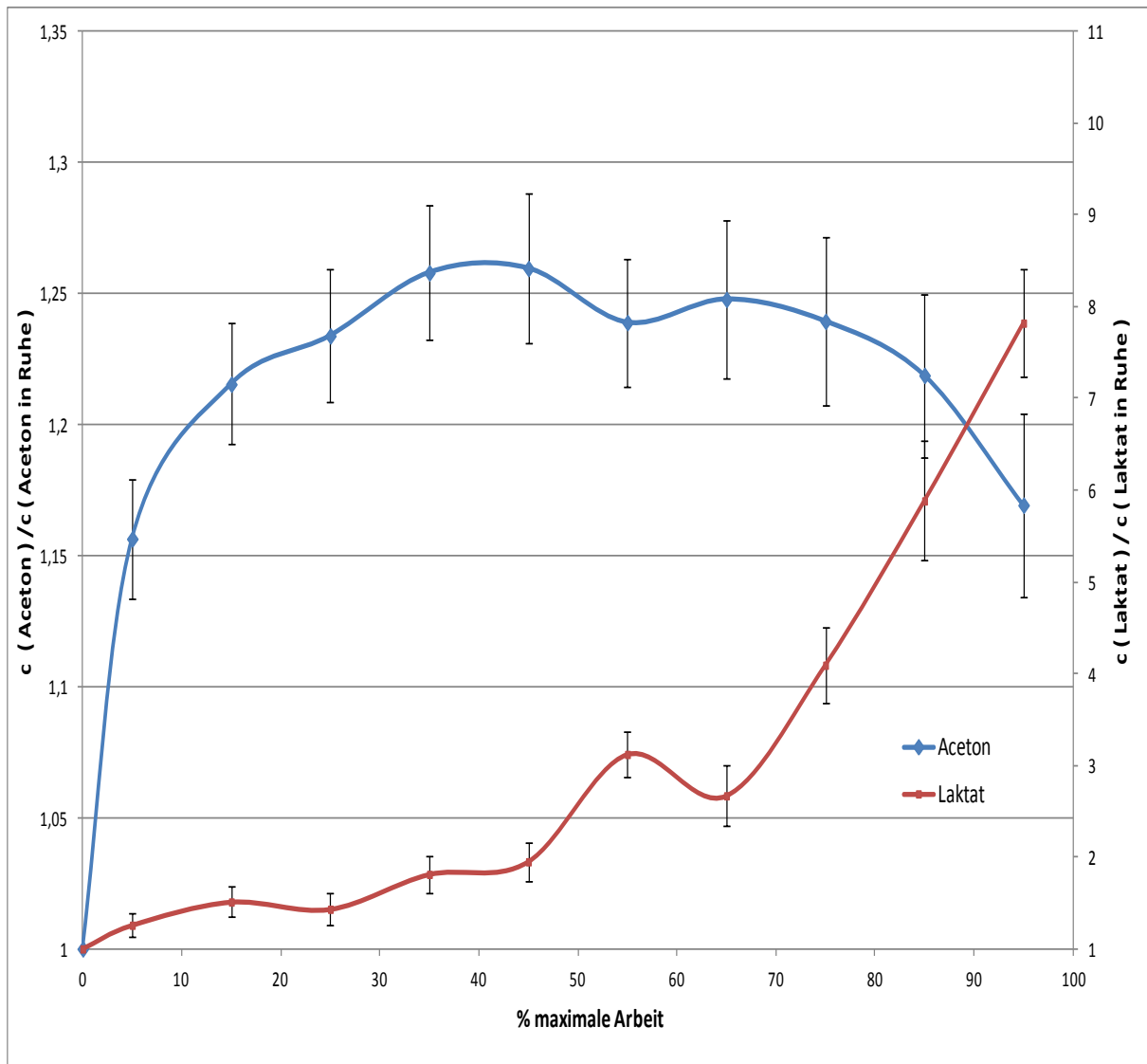


Abb. 17: Normierte, gemittelte Konzentrationen von Aceton und Laktat \pm SEM aller Probanden (Laktat - 20 Probanden beachtet) in Bezug zur relativen Arbeit

3.5.4.5 Vergleich der Schwellenbestimmung mittels Laktat (Dickhuth-Methode) und mittels exhalierter Acetonkonzentrationen

Für die Bestimmung der Acetonschwelle wurde eine Kurvenapproximierung vorgenommen und das Maximum der Acetonkonzentrationen mittels SigmaStat bestimmt. Tabelle 9 zeigt den Vergleich der diversen Methoden und die durch sie identifizierten individuellen Schwellen.

Proband	Dickhuth	Stegmann	RER	VT 1 nach V-Slope	VT 2 nach V-Slope	Aceton
P01	11	13	11	11	13	13
P02	20	22	17	17	19	16
P03	12	11	12	11	12	13
P04	19	20	17	17	18	9
P05	19	20	17	17	18	18
P06	22	22	22		21	
P07			19			21
P08	23	26	19	19	25	19
P09	22	21				22
P10	25	28	20	20	26	19
P11	21	27	15	15	21	17
P12	14	12	12	11	12	19
P13	11	11	9	8	11	12
P14	14	14	12	11	13	8
P15	19	21	15	12		19
P16	21	22				18
P17	17	21	13	13	17	12
P18	27	27	27	26	29	29
P19	26	25	26	26	27	
P20	20	31	18	18	22	20
P21	13	14	10	10	13	6

Tabelle 9: Vergleich der Schwellenwerte (in min): aerobe Schwellen (mittels RER, VT 1); anaerobe Schwellen (mittels Dickhuth, Stegmann, VT 2); RER = respiratory exchange rate, VT 1 = ventilatory threshold 1, VT 2 = ventilatory threshold 2

3.5.4.6 Bestimmung der Acetonmaxima

In den folgenden Abbildungen (Tab. 10, Abb. 18, Abb. 19) wurde ausgehend von den pro Minute gemittelten Rohdaten für Aceton eine polynomische Kurvenregression durchgeführt. Anschließend wurde die erste Ableitung gebildet und das erste Acetonmaximum bestimmt, welches in diesem Beispiel bei Minute 18 der Belastungszeit liegt.

Aceton (ppb)	Zeit (min)	berechnet	dy/dx
8785	1	7990	497,84
9142	2	8488	457,86
8253	3	8946	419,19
8305	4	9365	381,82
8709	5	9747	345,76
10916	6	10093	311,01
10793	7	10404	277,57
11086	8	10681	245,44
10597	9	10927	214,61
11130	10	11141	185,09
11113	11	11326	156,88
11293	12	11483	129,98
11598	13	11613	104,39
11826	14	11718	80,10
11908	15	11798	57,13
11696	16	11855	35,46
11859	17	11890	15,10
11941	18	11905	-3,96
11740	19	11901	-21,70
11970	20	11880	-38,14
12007	21	11842	-53,27
11512	22	11788	-67,09
12211	23	11721	-79,60
12632	24	11642	-90,81
11712	25	11551	-100,71
11420	26	11450	-109,30
11213	27	11341	-116,58
10829	28	11224	-122,55
11201	29	11102	-127,22
11097	30	10974	-130,57
10740	31	10844	-132,62
10632	32	10711	-133,36
10551	33	10578	-132,80
10074	34	10445	-130,92
9784	35	10314	-127,74

Tabelle 10: Ausgangswerte und Ergebnisse der Regressionsanalyse eines Probanden

1.Spalte: pro Minute gemittelte Acetonwerte;
 2.Spalte: Zeit; 3.Spalte: Daten nach Regressionsanalyse; 4.Spalte: Schnittpunkt der 1. Ableitung mit der Zeitachse (Abszisse) zwischen 15,10 und -3,96

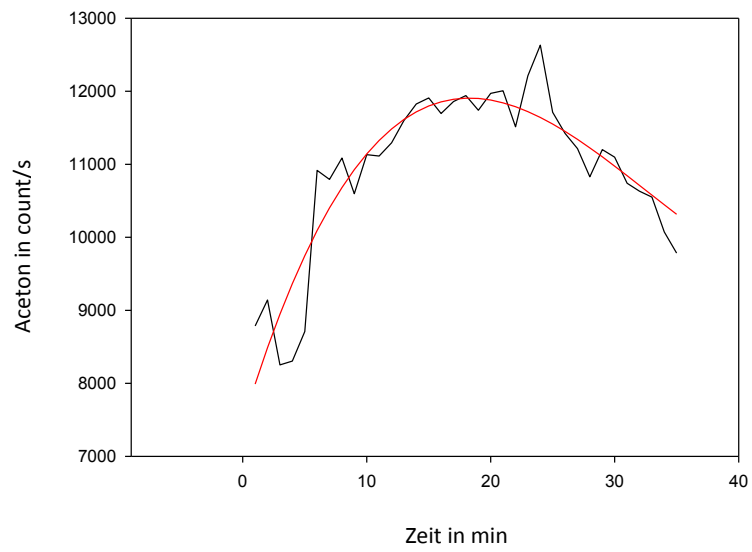


Abb. 18: Darstellung der Originaldaten als schwarze Kurve und der Werte nach Regressionsanalyse als rote Kurve
Abszisse: Zeit in min; Ordinate: Acetonwerte in count/s

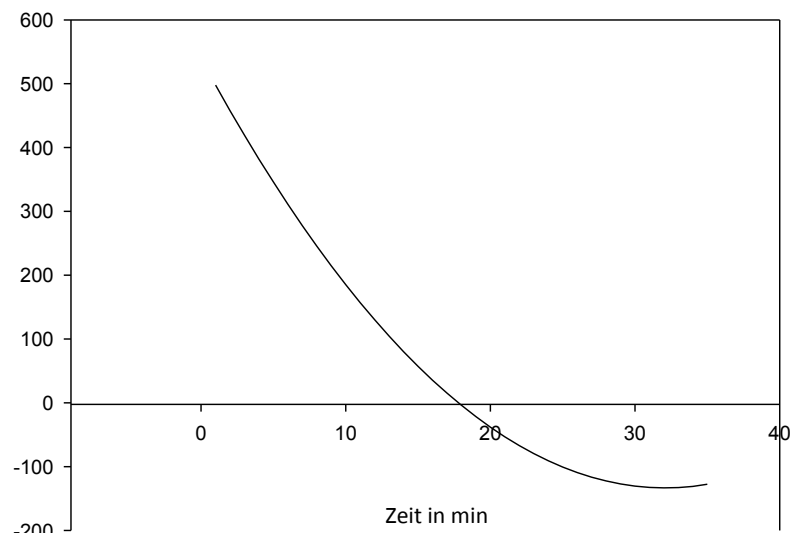


Abb. 19: Schnittpunkt der 1. Ableitung mit der Zeitachse zur Bestimmung der IAS mittels erstem Acetonmaximum

3.5.4.7 Bland Altman Plot (Laktat + Aceton)

Zur vergleichenden graphischen Darstellung der Methoden nach Dickhuth und der der Acetonmaxima zur Bestimmung der IAS wurde ein Bland Altman Plot verwendet (Abb.20). Die in diesem Bland Altman Plot verwendeten Daten sind ausschließlich die ermittelten Schwellenwertminuten. Auf der Abszisse wird der Mittelwert der Schwellenminute beider Methoden für die einzelnen Probanden aufgetragen. Die Ordinate stellt die Differenzen aus den beiden Methoden eines jeden Probanden dar. Darüber hinaus weist der Plot 3 waagerechte Linien auf, wobei eine für den Mittelwert der Differenzen steht und die beiden anderen die Grenze für den Mittelwert der Differenzen \pm die 1,96 fache Standardabweichung zeigen. Die Region zwischen der oberen und der unteren waagerechten Linie entspricht dem 95% -Konfidenzintervall.

Es wird offensichtlich, dass 17 von 18 Probandenwerten im 95%-Konfidenzintervall liegen und keine Tendenz zu stärkerer Abweichung bei größeren Mittelwerten der Messmethoden besteht. Die systematische Abweichung beträgt 2,17 min. 83 % der Werte zeigen eine Abweichung von ≤ 4 min. Der Standardfehler der Streuung wird mit 0,51 min und der Standardfehler der 1,96 - fachen Standardabweichung mit 1,79 min ausgewiesen.

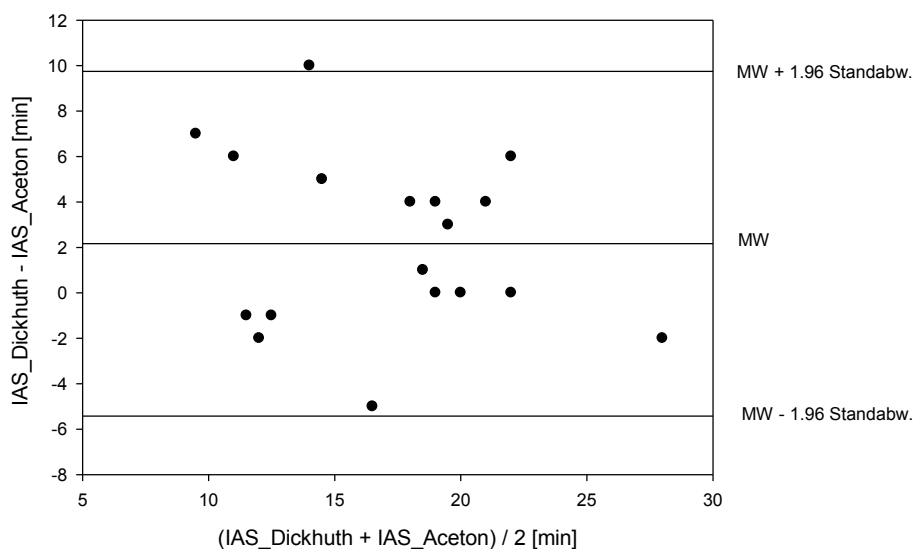


Abb. 20: Bland Altman Plot zum Methodenvergleich der Dickhuthmethode und der neuen Acetonmaximum-Methode zur Bestimmung der IAS; MW = Mittelwert, Standabw.= Standardabweichung

3.5.4.8 Bland Altman Plot (RER + Aceton)

Zusätzlich wurde auch ein Bland Altman Plot mit den Daten der RER-Bestimmung und der Acetonmaxima erstellt (Abb.21). Hierbei beträgt die systematische Abweichung -0,41 min und der Standardfehler des Mittelwerts der Differenzen -0,1 min. Der Standardfehler der 1,96 - fachen Standardabweichung beträgt 1,55 min.

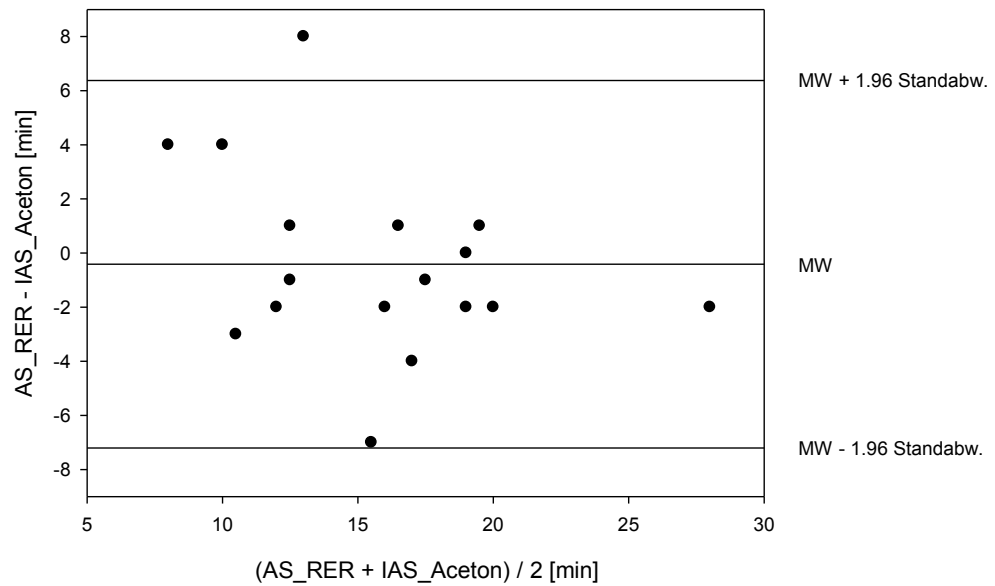


Abb. 21: Bland Altman Plot zum Vergleich der RER-Ergebnisse und der Acetonmaximum-Methode; AS = aerobe Schwelle; MW = Mittelwert, Standabw.= Standardabweichung

4 Diskussion

4.1 Sportphysiologische Ergebnisse

Man konnte bei allen Probanden eine Verschiebung zu niedrigeren, maximalen Leistungen als es vor dem Testdurchlauf zu vermuten war, beobachten [83]. Als mögliche Ursachen für die vorzeitige Ausbelastung wird die Restriktion durch die Spirometriemaske und die damit leicht reduzierte Sauerstoffaufnahme bei hochintensiven Belastungen im Vergleich zu maskenfreier Atmung oder auch die eingeschränkte Beweglichkeit durch die Verbindung zum PTR-MS angesehen.

Die Bestimmung einer anaeroben Schwelle mittels etablierter Methoden bringt erheblich divergierende Ergebnisse hervor. Das Konzept der Laktatdiagnostik zur Ermittlung einer anaeroben Schwelle wird intensiv diskutiert und stellt keine Goldstandardmethode dar [75, 77, 84, 85]. Resultierend daraus ist das steigende Interesse an alternativen respektive innovativen Methoden zur Trainingssteuerung und Leistungsbewertung begründet.

Aufgrund der in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Schwellenbestimmung mittels Laktat und Ventilation bleibt anzumerken, dass eine ermittelte Laktatschwelle und eine ventilatorische Schwelle nicht exakt vergleichbar sind, da sich zur Bestimmung von ventilatorischen Schwellen Rampenprotokolle durchgesetzt haben [49]. Allerdings sind Rampentests ungeeignet für eine simultane Schwellendetermination via Ventilation und Laktat [57].

4.2 Volatile Parameter

Die Atemgasacetonkonzentrationsverläufe lassen sich durch den physiologischen Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsel erklären. Die Bland-Altman Plots zeigen gute Übereinstimmungen der ermittelten anaeroben Laktatschwelle als auch der aeroben RER-Schwelle. Änderungen der Ammoniakkonzentrationen in der Ausatemluft sind vermutlich pH-bedingt oder durch den Protein- bzw. Muskelstoffwechsel verursacht.

Das Verhalten von Isopren während des Belastungstests lässt sich auf die Abhängigkeit von kardialer Auswurfleistung und Ventilation zurückführen.

4.2.1 Isopren

Isoprenkonzentrationen in der Ausatemluft zeigen in der Untersuchungsreihe nach initialem Anstieg einen weitgehend kontinuierlichen Abfall bis zum Ende der Belastung. Dieser Verlauf konnte bereits mehrfach unter Ergometerbelastung beobachtet werden [15, 16, 86]. Allerdings gibt es verschiedene Theorieansätze, dieses Phänomen zu erklären. Der starke Anstieg zu Beginn der Belastung wird durch die Zunahme des Herzminutenvolumens respektive vermehrte Lungendurchblutung und die damit konsekutiv einhergehende erhöhte Isoprenabatmung erklärt. Weiterhin kommt es bei angenommener gleichbleibender Bildung von Isopren im Organismus sowie erhöhter Abatmungsrate zum Abfall der Isoprenblutkonzentration und damit auch der Isoprenatemgaskonzentration im Verlauf der Belastung. Des Weiteren wird ein Verdünnungseffekt aufgrund zunehmender Atemfrequenzen beschrieben, welcher ebenso zu einer Abnahme der Isoprenkonzentration in der Ausatemluft führt [15]. King et al. [16] bekräftigte zunächst die Annahme, dass die Isoprenveränderungen eher auf Ventilations-Perfusionsprozesse zurückzuführen seien und nicht ihren Ursprung in Fluktuationen endogener Synthese haben. King et al. [17] konnten feststellen, dass Isopren trotz gleichbleibender Auswurfleistung des Herzens und Ventilation unter repetierender 75 Watt Belastung ein unterschiedliches Verhalten bot. Diese Feststellung gab Anlass für weitere Experimente, welche ebenfalls von King et al. [87] publiziert wurden. Hierbei war der Versuch so aufgebaut, dass beide Beine des Probanden separat bei 50 Watt belastet werden konnten, so dass jeweils nur ein Bein beansprucht wurde. Gleichzeitig wurde die Isoprenkonzentration im Atem gemessen. Nach dem Wechsel auf das andere Bein konnte man erneut einen nahezu identischen Isoprenpeak, verglichen mit dem zuvor belasteten Bein, messen. Es wurde geschlussfolgert, dass die Herkunft des Isoprens entweder in der lokal tätigen Muskulatur oder des jeweiligen Gefäßbaumes, welcher einen größeren Blutfluss unter Belastung aufweist, liegt [87]. Diese Vermutungen, des peripheren Einflusses auf die Isoprenkonzentration, wurden bereits früher durch andere Autoren geäußert [88]. Alle bisher genannten Erklärungsmodelle setzen eine konstante Syntheserate von Isopren voraus. Weitere Überlegungen zielen auf eine mögliche belastungsinduzierte Isoprenbildung in der jeweiligen Muskulatur ab, was allerdings nicht auf bisher bekanntem biochemischem Grundlagenwissen basiert [87].

Stellungnehmend und unter Berücksichtigung der Ergebnisse dieser Studie ist festzuhalten, dass sich die Daten bezüglich Isopren, trotz anderem Belastungsprotokoll bzw. unter Einbeziehung einer maximalen physischen Belastungssituation, mit denen von Karl et al. [15] und King et al. [16, 87] vergleichen lassen und somit den bisher nicht untersuchten Isoprenverlauf bei Submaximal- und Maximalleistung komplettieren. Der initiale Anstieg von Isopren wird sehr wahrscheinlich ein Resultat des gesteigerten Herzminutenvolumens darstellen. Der stete Abfall der Isoprenkonzentration unter Belastung ist möglicherweise der überproportionalen Zunahme des Atemminutenvolumens im Vergleich zum Herzminutenvolumen geschuldet und kann somit nicht als Indikator für die Atemtätigkeit gewertet werden.

Isopren stellt damit kein neues Element zur Trainingssteuerung aufgrund der fehlenden innovativen Aussagekraft im Vergleich zu bisher existierenden Analyseverfahren dar.

4.2.2 Ammoniak

Bei der Studie zeigte sich, dass die Ammoniakkonzentrationen in der Ausatemluft unter Belastung bis 45% maximaler Arbeit anstiegen, um anschließend auf diesem höheren Niveau bis zum Ende der Belastung zu verbleiben. Ammoniak wurde bereits mehrfach in der Ausatemluft gemessen [89-92]. Hunt et al. [93] versuchten erstmalig den Zusammenhang zwischen Ammoniak in Blut und Atemgas zu untersuchen und konnten dabei keine proportionale Beziehung feststellen. Daraufhin wurden Experimente durchgeführt, die darauf abzielten, ein Ammoniakverhalten in der Ausatemluft während eines Belastungstests nachzuweisen und in Beziehung zu den Blutammoniakkonzentrationen zu setzen. Dieses Vorhaben verfolgten u.a. Ament et al. [94] und dokumentierten einen überproportionalen Anstieg von Ammoniak und Laktat im Blut und einen exponentiellen Anstieg von Ammoniak in der Ausatemluft unter Belastung. Blutammoniak erhöhungen unter Belastung konnten wiederholend belegt werden [95, 96].

Eine mögliche Erklärung für das in dieser Arbeit beobachtete Ammoniakverhalten könnte in der Veränderung des pH-Wertes gesehen werden, welcher bei höheren Belastungen sinkt. Es stellt sich eine metabolisch bedingte azidotische Stoffwechsellaage ein, da durch den erhöhten aeroben Stoffwechsel vermehrt CO_2 , welches zunächst noch weitgehend abgepuffert (Eiweiße, Phosphate und Hämoglobin) bzw. abgeatmet werden kann, im Muskel produziert wird. Bei steigender Belastungsintensität, bei der die aerobe Glykolyse nicht mehr

ausreichend ATP bereit stellen kann, liefert die anaerobe Glykolyse zusätzlich ATP und als Endprodukt Milchsäure, welche allerdings schnell in Laktat⁻ und H⁺ dissoziiert und eine weitere pH-Absenkung bedingt [97]. Die Protonen stammen dabei aus der zunehmenden ATP-Hydrolyse während der Glykolyse [77]. Bei einem physiologischen pH-Wert liegen weniger als 5 % des Ammoniaks in Form von NH₃ vor, sondern hauptsächlich als NH₄⁺ (98,5 % bei pH 7,4; [19]), welches schlecht durch Biomembranen permeieren kann [98]. Dieses Verhältnis von NH₃ zu NH₄⁺ verschiebt sich unter Azidose noch weiter in Richtung NH₄⁺, so dass kein weiterer Konzentrationsanstieg von Ammoniak in der Ausatemluft gemessen werden kann. Aber nicht der Abfall des pH-Wertes allein ist entscheidend, sondern das Verhältnis von Muskel-pH zu Blut-pH, denn auch der pH-Gradient zwischen Geweben ist sowohl für die jeweilige Ammoniakkonzentration als auch für die Richtung der Diffusion zwischen intra- und extrazellulär [99] verantwortlich. In Ruhe werden pH-Werte im Muskel von 7,0 zu normalen Blut-pH-Werten von 7,4 gemessen. Bei stärkerer Belastung verändert sich das Verhältnis Muskel zu Blut-pH auf 6,6 zu 7,2 [100] und damit auch der Gradient, der dazu führt, dass relativ mehr Ammoniak im Muskel als im Blut, basierend auf der zunehmenden NH₄⁺-Bildung, verbleibt. Somit ist eine geringere Diffusionsfähigkeit aufgrund der Ladung möglich [101]. Dadurch erscheint bei höheren Intensitäten nicht mehr Ammoniak in der Ausatemluft und so kann kein weiterer Konzentrationsanstieg von Ammoniak in der Ausatemluft bei höheren Belastungsintensitäten gemessen werden. Andererseits ist es auch vorstellbar, dass in Folge der Hyperventilation mit Atemfrequenzen von bis zu 60 pro Minute ein stark alkalischer pH-Wert lokal in der Lunge vorliegt, welcher die Konzentration von NH₃ um einen gewissen Anteil anheben könnte und so dazu beiträgt, dass Ammoniak in der Ausatemluft bei höheren Belastungsintensitäten zumindest weiter auf einem erhöhten Konzentrationslevel verbleibt [102]. Wie man an diesen beiden Diskussionsansätzen bereits sehen kann, bleibt es problematisch, exakte Erklärungsmodelle für das Ammoniakverhalten in der Ausatemluft zu validieren, da gegenwärtig noch zu viele, auch unbekannte Einflussfaktoren bezüglich der Abatmungskinetik von Ammoniak eine Rolle spielen.

Bei Betrachtung der Ammoniakkonzentrationen in der Ausatemluft in Abhängigkeit von der IAS fällt auf, dass es erst zu deutlichen Veränderungen des Atemammoniaks vor bzw. bei Erreichen der IAS kommt. In der Literatur wird das Ammoniakverhalten kontrovers erörtert.

Schulz et al. [39] diskutiert eine Belastung, bei der sich gerade noch ein steady state von Ammoniak einstellt, „die im Mittel 60 % der Maximalleistung beträgt bzw. 20-30 Watt unterhalb des maximalen Laktat-steady-state liegt“ [39]. Werden diese Informationen auf die hier vorliegenden Daten übertragen, ist festzustellen, dass die Ammoniakveränderungen drei Minuten vor der IAS in der Ausatemluft zunehmen. Da alle drei Minuten eine Wattsteigerung um eben die 20 Watt vorgenommen wurde, ist eine Ähnlichkeit des Atemammoniakverhaltens in der vorliegenden Studie mit dem bereits bekannten Ammoniakverhalten im Blut zu konstatieren.

Weitere Autoren, die Laktat- und Ammoniakschwellen anhand von Blutkonzentrationen verglichen haben, kommen zu dem Schluss, dass diese Schwellen bestehen, allerdings nur eine Koinzidenz aufweisen und abhängig von unterschiedlichen Belastungsprofilen oder auch unterschiedlicher Glykogenbeladung abweichende Anstiegsverhalten aufweisen [103-105].

Dennoch könnte eine Ammoniakanalyse in der Ausatemluft Hinweise über den Metabolismus und somit weitere Informationen bezüglich Leistungsdiagnostik liefern.

4.2.3 Aceton und relative Arbeit/ in Abhängigkeit der IAS

Zurückliegende Untersuchungen veranschaulichten das Bestehen einer positiven Korrelation von Plasma-und Atemgaskonzentrationen von Aceton [106-108]. Andere Studien schränkten dahingehend ein, dass Acetonkonzentrationen im Atem nur bis 4 mmol/l Blutacetonkonzentration korrelieren [109].

In den vergangenen Jahren wurden von einigen Arbeitsgruppen Acetonmessungen über die Ausatemluft unter sportlicher Belastung vorgenommen, allerdings nur bei leichter bis moderater Intensität [86, 110-112]. Hierbei konnten ebenso Erhöhungen von Aceton in der Ausatemluft unter Belastung gemessen werden. Jedoch beobachtete man bisher keinen Acetonabfall wie bei den in dieser Studie vorgelegten Daten. Mögliche Gründe dafür sind in den zu gering gewählten Intensitäten zu suchen, da die sinkenden Acetonkonzentrationen erst in den höheren Belastungsbereichen beobachtet werden können und ein, wie in dieser Studie durchgeführter Ausbelastungstest, ein Novum unter den Atemgasacetonmessungen darstellt.

Unter sportlicher Belastung werden verschiedene Energiequellen in Abhängigkeit von der Intensität herangezogen. Dabei sind es insbesondere Glucose und Fette, die bei physischer Belastung eine Rolle spielen. Der Anteil an Fetten in Form freier Fettsäuren sowie

Triglyceriden als Energieträger nimmt von geringer bis mittlerer Intensität (25-65% $\dot{V}O_2\text{max}$) zu, um bei hoher Intensität (85% $\dot{V}O_2\text{max}$) wieder abzunehmen [113-115]. Die als Bezugsgröße gewählte relative Arbeit liegt etwa 10-15% unterhalb der gemessenen $\dot{V}O_2\text{max}$, das heißt, die metabolischen Veränderungen bei einer relativen Arbeit von 60% entsprechen etwa denen der $\dot{V}O_2\text{max}$ von 70-75%. Bei genauerer Betrachtung des Acetonverlaufs fällt im Übergangsbereich von mittlerer zu hoher Intensität ein kurzzeitiger Abfall, gefolgt von einem Anstieg und letztlich eine endgültige Reduktion der Acetonkonzentration auf. Einen sehr ähnlichen Verlauf der Fettoxidation unter Belastung beschrieb z.B. Astorino [116].

Die freien Fettsäuren gelangen über den Blutweg zu Leber und Muskulatur. In den Mitochondrien der Zellen findet nun der Abbau der Fettsäuren, die β -Oxidation, statt. Als Energieträger wird Acetyl-CoA gebildet, das als Substrat für den Citratzyklus und als Ausgangsstoff für die Ketogenese dient. Beide Stoffwechselwege, aerobe und anaerobe Energiegewinnung, erfolgen stets parallel. Abhängig von der Sauerstoffaufnahme und der Belastungsintensität verschiebt sich nur das Verhältnis zwischen den beiden Stoffwechselwegen. Kommt es nun unter leichter bis mittlerer Belastung zu vermehrter β -Oxidation und damit zur Acetyl-CoA-Synthese, so reagiert Acetyl-CoA zum einen mit Oxalacetat im Citratzyklus zu Citrat und zum anderen können zwei Acetyl-CoA zu Acetoacetyl-CoA reagieren. In weiteren Zwischenschritten entstehen schließlich die Ketonkörper β -Hydroxybutyrat, Acetoacetat und Aceton [32]. Das vermehrt anfallende Citrat wirkt als starker Inhibitor der Phosphofructokinase, welches ein Schlüsselenzym der aeroben Glykolyse darstellt. Durch Hemmung der Glykolyse wird weniger Pyruvat und damit auch weniger Oxalacetat, welches als Reaktionspartner des Acetyl-CoA fungiert, gebildet. Infolgedessen und durch den zunehmenden Sauerstoffmangel, welcher die Funktion der Atmungskette limitiert, kommt es sukzessive zum Anstau von Acetyl-CoA, welches nun vermehrt zur Synthese von Ketonkörpern bereitsteht [117]. Diese metabolischen Zusammenhänge erklären somit die in der Studie gemessene Zunahme der Atemgasacetonkonzentration bei leichter bis moderater Beanspruchung.

Mit Abnahme der Lipolyseleistung und damit der Konzentration der freien Fettsäuren im Blut unter höherer Belastungsintensität wird auch die β -Oxidation gedrosselt und damit sinkt der Acetyl-CoA-Spiegel. Aus diesem Grund verhält sich auch die Ketonkörpersynthese bei höheren Belastungen ab 65% $\dot{V}O_2\text{max}$ regredient, so dass weniger Aceton produziert und

auch abgeatmet werden kann. Entsprechend kommt es in den Studiendaten ab 50-55% maximaler Arbeit zu Atemacetonkonzentrationsabnahme.

Es werden verschiedene Theorien diskutiert, die eine Begründung für die Regression der Lipolyse bei hohen Intensitäten liefern sollen. So stehen zur Disposition die Hemmung der Lipolyse durch Laktat [118], die Hemmung der Einschleusung langkettiger freier Fettsäuren in das Mitochondrium [119, 120] sowie die Downregulation der Karnitintransferase [121, 122].

Seitdem Messungen des Acetons in der Atemluft möglich sind, lädt die Herkunft dieser Substanz zu diversen gedanklichen und experimentellen Erklärungsversuchen ein. So waren es u.a. Anderson et al. [123, 124] unter Ruhe und King et al. [111] unter Belastung, die einen großen Teil des Acetons in der Expirationsluft auf Gasaustauschprozesse zurückführen. Sie gehen davon aus, dass Aceton in der Mucosa des Respirationstraktes gespeichert wird und es auf diese Weise zu Druckgradientveränderungen von Aceton in der Alveolarluft und im Kapillarblut im Alveolarraum kommt, was zu einer Reduktion des Abladens von Aceton aus dem Blut führt. Die Ergebnisse dieser Studie hingegen zeigen einen anderen Verlauf des Acetons, welcher sich nicht mit den Vermutungen von Anderson et al. und King et al. erklären lässt. Dennoch sind die von ihnen beschriebenen Prozesse möglich, allerdings aufgrund der komplexen Belastungssituation bei Ausbelastungsbedingung als marginaler Einfluss einzuschätzen.

Hintergrund für die Auswahl des Acetonmaximums zur Ermittlung der anaeroben Schwelle ist das gegensätzliche Verhalten von Fettsäure- und Laktatkonzentration im Blut [31], was bei Ansteigen der Laktatkonzentration eine Abnahme der Fettsäurekonzentration und konsekutiv ein Abfall der Ketonkörperkonzentration im Blut bedeutet. Somit wird postuliert, dass das Acetonmaximum den Stoffwechselbereich darstellt, bei dem Laktat im Blut akkumuliert und damit den anaeroben Stoffwechselübergang kenntlich macht.

4.2.4 Aceton und RER

Bei der Darstellung von RER und Aceton fällt auf, dass Aceton sein Maximum erreicht, wenn RER im Bereich von 0,94 – 0,96 liegt. RER spiegelt die aktuell vorherrschende Energiequelle wider. So wird die RER entweder herangezogen um Aussagen über Stoffwechselzustände zu treffen oder um den Grad der Ausbelastung zu erfassen. Bei einer RER von 0,94 – 0,96, die in den Untersuchungen die Acetonmaxima abbildete, findet eine Annäherung der

Stoffwechselverhältnisse von Fett-Kohlenhydratverbrennung zu reiner Kohlenhydratverbrennung, welche bei einer RER von 1,0 in der Literatur angegeben wird, statt [125, 126]. Nur der Vollständigkeit halber bleibt zu erwähnen, dass eine reine Proteinverbrennung eine RER von 0,8 bedingen würde, welche allerdings nur bei starken Hungerperioden oder ausgiebigen Dauerbelastungen eine Einflussgröße darstellt. Wenn man davon ausgeht, dass Aceton und Fettstoffwechsel in einer engen Beziehung zueinander stehen, dann sind die hohen RER-Werte als Indikator eines reduzierten Fettstoffwechsels und der gleichzeitige Abfall von Aceton in der Ausatemluft ein weiteres Indiz dafür, dass Aceton ein Abbild des Substratmetabolismus unter Belastung darstellen kann.

4.2.5 Aceton und Laktat

Bei der Betrachtung der vergleichenden Darstellung von Aceton und Laktat fällt zunächst ein Konzentrationsanstieg beider Parameter, Aceton mehr als Laktat, bis etwa 45% der maximalen Arbeit auf. Im weiteren Verlauf bis zum Belastungsabbruch divergieren Aceton und Laktat zunehmend.

Zum Verständnis des hier abgebildeten metabolischen Geschehens muss man die Auswirkungen des Laktatanstiegs für den Organismus unter physischer Belastung eruieren.

Dabei gilt der Anstieg des Laktats noch als ein Zeichen für den sich erschöpfenden Sportler, jedoch wird diese alleinige Betrachtungsweise mehr und mehr von positiven Aspekten bezüglich des Laktats gespickt. Denn Laktat dient dem Körper als Energiequelle [127, 128], als kurzzeitige Überbrückung zur ATP-Resynthese bei hoch intensiver Arbeit, übernimmt eine Mediator- und Regenerationsfunktion [77] und wird sogar als Pseudohormon, „Lactormon“, mit mannigfaltiger Wirkungsweise diskutiert [78, 129].

In der Sportmedizin wird Laktat zudem als möglicher Inhibitor der Lipolyse gesehen [117, 118, 130]. Bei Annahme dieses Gedankens erscheint der oben beschriebene Konzentrationsverlauf von Aceton und Laktat nachvollziehbar, da Laktat demnach als Gegenspieler der Lipolyse und damit der Ketogenese verstanden wird. Krasnova et al. [31] untersuchten Blutkonzentrationen von Laktat, Fettsäuren und Ketonkörper und deren gegenseitige Beeinflussung. Dabei fand man heraus, dass es bei einem Blutlaktatanstieg sowohl zur deutlichen Abnahme von Fettsäuren als auch von Ketonkörpern im Blut kommt [31].

4.2.6 Bland Altman Plots

Bei Betrachtung der beiden Plots, sowohl Aceton und Laktat als auch Aceton und RER, fällt auf, dass bei der Schwellenbestimmung mittels Acetonmethode im Vergleich mit beiden Verfahren kein Plot eine starke Abweichung oder große Streuung beider Methoden zeigt. Somit kann geschlussfolgert werden, dass sich die Acetonschwelle, aufgrund der unterschiedlichen Aussagekraft von RER, eher aerobe Schwelle, und Laktat, als anaerober Schwellenmarker, möglicherweise zwischen diesen beiden sportphysiologischen Bereichen befindet.

4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen zeigen erstmals den Konzentrationsverlauf von Isopren, Aceton und Ammoniak in der Ausatemluft von Probanden unter ansteigender Belastung bis hin zur Ausbelastung. Eine kontinuierliche Detektion der genannten Substanzen in der Alveolarphase war mittels Echtzeit-Massenspektrometrie bei allen Probanden möglich.

Bisher unter leichter bis moderater Belastung beobachtete Änderungen der Isoprenkonzentrationen in der Ausatemluft konnten auch unter Ausbelastungsbedingungen bestätigt werden. Der Isoprenkonzentrationsverlauf wird entscheidend von physiologischen Parametern wie beispielsweise Atemminutenvolumen und Herzfrequenz beeinflusst. Die Berücksichtigung dieser Parameter ist daher für die Interpretation der Konzentrationsänderungen volatiler Atemgasbiomarker eine wichtige Voraussetzung.

Auch die Ammoniakkonzentrationen zeigen während des Belastungstests charakteristische Änderungen. Mögliche Ursachen dafür sind pH-Wert- bzw. Stoffwechseleränderungen in Blut und Muskulatur.

Die in der Ausatemluft beobachteten Änderungen der Acetonkonzentrationen lassen sich mit Hilfe des physiologischen Kohlenhydrat- und Lipidmetabolismus erklären. Vor diesem Hintergrund kann über den Verlauf der Acetonkonzentrationen eine individuelle anaerobe Schwelle bestimmt werden, die sich gut mit der über Laktat bestimmten anaeroben Schwelle vergleichen lässt. Der Reiz des Acetons verglichen mit Laktat zur Ermittlung einer anaeroben Schwelle besteht darin, dass die Acetonbestimmung im Atemgas eine nicht-invasive Methode darstellt.

Volatile Substanzen in der Ausatemluft werden unter Belastungsbedingungen von physiologischen Parametern respektive vom Stoffwechsel beeinflusst. Da sich Atemgasbiomarker, im Gegensatz zu etablierten Parametern wie z.B. Laktat, kontinuierlich und nicht invasiv bestimmen lassen, bieten sie ein großes diagnostisches Potential für die Trainingssteuerung, aber auch für die Verbesserung der Diagnostik bei Erkrankungen.

5 Thesen

1. Leistungsdiagnostische Verfahren wie z.B. der fahrradergometrische Stufentest kommen häufig, sowohl im Leistungs- als auch Breitenport, zur Anwendung.
Die Bestimmung der anaeroben Schwelle wird überwiegend mittels Laktatdiagnostik durchgeführt.
2. Messverfahren, wie die Protonen-Transfer-Reaktion-Massenspektrometrie, ermöglichen nichtinvasiv eine Echtzeiterfassung relevanter Atemgasbestandteile unter hochintensiver Belastung.
3. Nur alveoläre Konzentrationen spiegeln korrespondierende Blutkonzentrationen der untersuchten Substanzen und somit die aktuelle Stoffwechselsituation wider.
4. Der Isoprenkonzentrationsverlauf unter Belastung ist abhängig von physiologischen Parametern wie Atemminutenvolumen und Herzfrequenz.
5. Isopren lässt keinen Zusammenhang mit der anaeroben Laktatschwelle erkennen.
6. Ammoniak weist Konzentrationsänderungen während des Belastungstests auf. Mögliche Ursachen sind pH-Wert- bzw. Stoffwechseleränderungen in Blut und Muskulatur.
7. Aceton zeigt belastungsabhängige Konzentrationsänderungen, die sich durch Aspekte des Kohlenhydrat- und Lipidmetabolismus erklären lassen.
8. Atemgasacetonkonzentrationen verlaufen divergierend zu den Blutlaktatkonzentrationen ab mittlerer Belastungsintensität.
9. Eine Bestimmung der anaeroben Schwelle mittels Aceton ist mit Hilfe eines einfachen Algorithmus möglich und stellt eine Alternative zur Laktatdiagnostik dar.
10. Die nichtinvasive Messung von Aceton in der Ausatemluft ist sowohl von sportphysiologischem als auch pathophysiologischem Interesse.

6 Abkürzungsverzeichnis

ATP	Adenosintriphosphat
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
AF	Atemfrequenz
β-HMG-CoA	β-Hydroxymethylglutaryl-Coenzym A
HF	Herzfrequenz
IAS	individuelle anaerobe Schwelle
IMP	Inositolmonophosphat
MLSS	Maximales Laktat steady-state
PTR-MS	Protonen-Transfer-Reaktion-Massenspektrometer
RQ	Respiratorischer Quotient
RER	respiratory exchange ratio/rate
VOC	volatile organic compound

7 Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1 Darstellung des Zusammenhangs von Ketonkörper und freien Fettsäuren im Blut bei Muskeltätigkeit
- Abb. 2 Übersicht über den Purinnucleotidzyklus
- Abb. 3 Schematische Darstellung des aerob-anaeroben Übergangs
- Abb. 4 Schematische Darstellung des Laktat- und Ammoniakverhaltens unter Belastung
- Abb. 5 Versuchsaufbau
- Abb. 6 chemische Reaktion im PTR-MS
- Abb. 7 innerer Aufbau des PTR-MS
- Abb. 8 Detektionsalgorithmus für die Inspirations- und alveolare Expirationsluft
- Abb. 9 Abbildung mehrerer Messzyklen mit diversen PTR-MS-Signalen
- Abb. 10 Beispielverlauf von Isopren, Ammoniak, Aceton und Laktat während der Belastungsphase eines Probanden (Prob. 8)
- Abb. 11 Verlauf von normierten, gemittelten Isoprenkonzentrationen aller 21 Probanden während der Belastung
- Abb. 12 Verlauf von normierten, gemittelten Ammoniakkonzentrationen von 19 Probanden während der Belastung
- Abb. 13 Verlauf von normierten, gemittelten Ammoniakkonzentrationen in Abhängigkeit von der IAS von 19 Probanden während der Belastung
- Abb. 14 Verlauf von normierten, gemittelten Acetonkonzentrationen aller 21 Probanden während der Belastung
- Abb. 15 Verlauf von normierten, gemittelten Acetonkonzentrationen in Abhängigkeit von der IAS aller Probanden während der Belastung

- Abb. 16 Verlauf von normierten, gemittelten Acetonkonzentrationen aller Probanden und gemittelten Absolutwerten der RER von 18 Probanden während der Belastung
- Abb. 17 Verlauf von normierten, gemittelten Aceton- und Laktatkonzentrationen der Probanden während der Belastung
- Abb. 18 Darstellung der Originalwerte und der Werte nach Regressionsanalyse für Aceton eines Beispielprobanden
- Abb. 19 Darstellung des Schnittpunktes der ersten Ableitung mit der Abszisse (Zeitachse) zur Bestimmung der Schwellenminute
- Abb. 20 Bland Altman Plot zum Methodenvergleich der Dickhuthmethode und der Acetonmaximummethode
- Abb. 21 Bland Altman Plot zum Methodenvergleich der RER- Werte und der Acetonmaximummethode

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Absolute und relative $\dot{V}O_2$ max-Werte von Frauen und Männern während der Belastung
Tabelle 2:	Probandendaten
Tabelle 3:	Testablauf
Tabelle 4:	Beispiel für die Ermittlung der relativen Arbeit
Tabelle 5:	Laktatkonzentrationen der Probanden in Ruhe, an der IAS, bei Abbruch und maximal
Tabelle 6:	Leistungen der Probanden absolut, relativ und an der IAS
Tabelle 7:	Herzfrequenzen der Probanden an der IAS und maximal
Tabelle 8:	Darstellung der absoluten Werte der physiologischen Messparameter
Tabelle 9:	Darstellung der jeweiligen Testminute, in der die IAS durch verschiedene Methoden ermittelt wurde
Tabelle 10:	Ausgangswerte und Ergebnisse der Regressionsanalyse
Tabelle 11:	Verschiedene Bestimmungsmethoden zur Schwellendiagnostik

9 Literaturverzeichnis

1. Mayer, J.G., *Geschichte, Theorie und Ethik der Medizin*, in *Querschnittsbereiche*, J. G.Mayer, Editor. 2008, 23-58. p. 23-58.
2. Schwerd, W., *Rechtsmedizin – Lehrbuch für Mediziner und Juristen*. Vol. 5. neubearbeitete Aufl. Köln. 1992, Köln: Deutscher Ärzte-Verlag.S.110-111
3. Perman, J.A., *Digestion and absorption of fruit juice carbohydrates*. J Am Coll Nutr, 1996. 15(5 Suppl): p. 12S-17S.
4. Szabadváry, F., *Antoine Laurent Lavoisier – Der Forscher und seine Zeit 1743-1794*. 1973(Budapest: Akadémiai Kiadó): p. S. 156.
5. Pauling, L., et al., *Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1971. 68(10): p. 2374-6.
6. Miekisch, W., J.K. Schubert, and G.F. Noeldge-Schomburg, *Diagnostic potential of breath analysis--focus on volatile organic compounds*. Clin Chim Acta, 2004. 347(1-2): p. 25-39.
7. Wade, C.R. and A.M. van Rij, *In vivo lipid peroxidation in man as measured by the respiratory excretion of ethane, pentane, and other low-molecular-weight hydrocarbons*. Anal Biochem, 1985. 150(1): p. 1-7.
8. Foster, W.M., et al., *Breath isoprene: temporal changes in respiratory output after exposure to ozone*. J Appl Physiol, 1996. 80(2): p. 706-10.
9. Carpenter, C.T., P.V. Price, and B.W. Christman, *Exhaled breath condensate isoprostanes are elevated in patients with acute lung injury or ARDS*. Chest, 1998. 114(6): p. 1653-9.
10. Lebovitz, H.E., *Diabetic ketoacidosis*. Lancet, 1995. 345(8952): p. 767-72.
11. Chen, S., L. Zieve, and V. Mahadevan, *Mercaptans and dimethyl sulfide in the breath of patients with cirrhosis of the liver. Effect of feeding methionine*. J Lab Clin Med, 1970. 75(4): p. 628-35.
12. Kovaleva, E.S., et al., *[Lipid peroxidation processes in patients with schizophrenia]*. Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova, 1989. 89(5): p. 108-10.
13. Davies, S., P. Spanel, and D. Smith, *Quantitative analysis of ammonia on the breath of patients in end-stage renal failure*. Kidney Int, 1997. 52(1): p. 223-8.

14. Fuchs, P., et al., *Breath gas aldehydes as biomarkers of lung cancer*. Int J Cancer, 2009. 126(11): p. 2663-70.
15. Karl, T., et al., *Human breath isoprene and its relation to blood cholesterol levels: new measurements and modeling*. J Appl Physiol, 2001. 91(2): p. 762-70.
16. King, J.e.a., *Isoprene and acetone concentration profiles during exercise on an ergometer* J.Breath Res., 2009. Jun;3(2):027006.
17. Taalman, R.D., *Isoprene: background and issues*. Toxicology, 1996. 113(1-3): p. 242-6.
18. Gelmont, D., R.A. Stein, and J.F. Mead, *Isoprene-the main hydrocarbon in human breath*. Biochem Biophys Res Commun, 1981. 99(4): p. 1456-60.
19. Löffler, Georg; Petrides, Petro E., *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer-Verlag, 8.Auflage, 2007: S. 408 ff., 443 ff., 564ff., 944 ff.
20. Stone, B.G., et al., *Effect of regulating cholesterol biosynthesis on breath isoprene excretion in men*. Lipids, 1993. 28(8): p. 705-8.
21. Deneris, E.S., R.A. Stein, and J.F. Mead, *In vitro biosynthesis of isoprene from mevalonate utilizing a rat liver cytosolic fraction*. Biochem Biophys Res Commun, 1984. 123(2): p. 691-6.
22. Eisenreich, W., et al., *Biosynthesis of isoprenoids via the non-mevalonate pathway*. Cell Mol Life Sci, 2004. 61(12): p. 1401-26.
23. Kohlmuller, D. and W. Kochen, *Is n-pentane really an index of lipid peroxidation in humans and animals? A methodological reevaluation*. Anal Biochem, 1993. 210(2): p. 268-76.
24. Cailleux, A., M. Cogny, and P. Allain, *Blood isoprene concentrations in humans and in some animal species*. Biochem Med Metab Biol, 1992. 47(2): p. 157-60.
25. Nelson, N., et al., *Exhaled isoprene and acetone in newborn infants and in children with diabetes mellitus*. Pediatr Res, 1998. 44(3): p. 363-7.
26. Cailleux, A. and P. Allain, *Isoprene and sleep*. Life Sci, 1989. 44(24): p. 1877-80.
27. Kushch, I., et al., *Breath isoprene--aspects of normal physiology related to age, gender and cholesterol profile as determined in a proton transfer reaction mass spectrometry study*. Clin Chem Lab Med, 2008. 46(7): p. 1011-8.
28. Finn, P.F. and J.F. Dice, *Proteolytic and lipolytic responses to starvation*. Nutrition, 2006. 22(7-8): p. 830-44.

29. Mitchell, G.A., et al., *Medical aspects of ketone body metabolism*. Clin Invest Med, 1995. 18(3): p. 193-216.
30. Kalapos, M.P., *On the mammalian acetone metabolism: from chemistry to clinical implications*. Biochim Biophys Acta, 2003. 1621(2): p. 122-39.
31. Krasnova, A.F., et al., *[Characteristics of energy metabolism during muscular activity in relation to the adaptation of the organism to this activity]*. Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova, 1972. 58(1): p. 114-21.
32. Laffel, L., *Ketone bodies: a review of physiology, pathophysiology and application of monitoring to diabetes*. Diabetes Metab Res Rev, 1999. 15(6): p. 412-26.
33. Wilkinson, D.J., N.J. Smeeton, and P.W. Watt, *Ammonia metabolism, the brain and fatigue; revisiting the link*. Prog Neurobiol, 2010. 91(3): p. 200-19.
34. Graham, T.E., et al., *Ammonia metabolism during intense dynamic exercise and recovery in humans*. Am J Physiol, 1990. 259(2 Pt 1): p. E170-6.
35. Cordoba, J. and B. Minguez, *Hepatic encephalopathy*. Semin Liver Dis, 2008. 28(1): p. 70-80.
36. Lowenstein, J.M., *Ammonia production in muscle and other tissues: the purine nucleotide cycle*. Physiol Rev, 1972. 52(2): p. 382-414.
37. Zhao, S., et al., *Muscle adenine nucleotide metabolism during and in recovery from maximal exercise in humans*. J Appl Physiol, 2000. 88(5): p. 1513-9.
38. van Hall, G., et al., *Deamination of amino acids as a source for ammonia production in human skeletal muscle during prolonged exercise*. J Physiol, 1995. 489 (Pt 1): p. 251-61.
39. Schulz H, Heck H, *Ammoniak in der Leistungsdiagnostik*. Dt. Zeitschrift f. Sportmedizin, Jahrgang 52, Nr.3, S.107-108, 2001.
40. Weiner, H. and X. Wang, *Aldehyde dehydrogenase and acetaldehyde metabolism*. Alcohol Alcohol Suppl, 1994. 2: p. 141-5.
41. Lees, G.J. and G.R. Jago, *Formation of acetaldehyde from threonine by lactic acid bacteria*. J Dairy Res, 1976. 43(1): p. 75-83.
42. Hollmann, Strüder, Predel, Tagarakis, *Spiroergometrie: Kardiopulmonale Leistungsdiagnostik des Gesunden und Kranken*. 2006. Schattauer Verlag.S.12ff., S. 93

43. Wohnisch, M., *Spiroergometrie in der Kardiologie - Grundlagen der Physiologie und Terminologie*. Austrian Journal of Cardiology, 2003. 10 (9): p. 383-390.
44. Meyer, T., *Die maximale Sauerstoffaufnahme*. Dt. Zeitschrift f. Sportmedizin, 50, Nr.9, 1999. S.285-286.
45. Myers, J., et al., *Effect of sampling on variability and plateau in oxygen uptake*. J Appl Physiol, 1990. 68(1): p. 404-10.
46. Fletcher, G.F., et al., *Exercise standards for testing and training: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association*. Circulation, 2001. 104(14): p. 1694-740.
47. Howley, E.T., D.R. Bassett, Jr., and H.G. Welch, *Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary*. Med Sci Sports Exerc, 1995. 27(9): p. 1292-301.
48. Betik, A.C. and R.T. Hepple, *Determinants of VO₂ max decline with aging: an integrated perspective*. Appl Physiol Nutr Metab, 2008. 33(1): p. 130-40.
49. Kindermann, W., *Anaerobe Schwelle*. Dt. Zeitschrift f. Sportmedizin, 2004. Jahrgang 55(Nr.6): p. 161-162.
50. Weltman, A., et al., *Reliability and validity of a continuous incremental treadmill protocol for the determination of lactate threshold, fixed blood lactate concentrations, and VO₂max*. Int J Sports Med, 1990. 11(1): p. 26-32.
51. Kroidl, *Kursbuch Spiroergometrie*. 2010. Georg Thieme Verlag. S. 103.
52. Meyer, T., *Der respiratorische Quotient (RQ)*. Dt. Zeitschrift f. Sportmedizin, 2003. Jahrgang 54(Nr.1): p. 29-30.
53. Waterhouse, C. and J. Keilson, *Cori cycle activity in man*. J Clin Invest, 1969. 48(12): p. 2359-66.
54. Hermansen, L., *Metabolic Acidosis and Changes in Water and Electrolyte Balance in Relation to Fatigue during Maximal Exercise of Short Duration*. Int. Journal Sports Med.5, 1984: p. 110-115.
55. Hermansen, L., *Effect of metabolic changes on force generation in skeletal muscle during maximal exercise*. Ciba Found Symp, 1981. 82: p. 75-88.
56. Beaver, W.L., K. Wasserman, and B.J. Whipp, *A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange*. J Appl Physiol, 1986. 60(6): p. 2020-7.

57. Meyer, T., et al., *A conceptual framework for performance diagnosis and training prescription from submaximal gas exchange parameters--theory and application*. Int J Sports Med, 2005. 26 Suppl 1: p. S38-48.
58. Dickhuth, H.H., et al., *Ventilatory, lactate-derived and catecholamine thresholds during incremental treadmill running: relationship and reproducibility*. Int J Sports Med, 1999. 20(2): p. 122-7.
59. Mader, A., Liesen, H., Heck, H., Philippi, H., Rost, R., Schürich, P., Hollmann, W., *Zur Beurteilung der sportartspezifischen Ausdauerleistungsfähigkeit im Labor*. Sportarzt und Sportmedizin, 1976. 27: p. 80--88, 109-112.
60. Heck, H., et al., *Justification of the 4-mmol/l lactate threshold*. Int J Sports Med, 1985. 6(3): p. 117-30.
61. Stegmann, H. and W. Kindermann, *Comparison of prolonged exercise tests at the individual anaerobic threshold and the fixed anaerobic threshold of 4 mmol.l(-1) lactate*. Int J Sports Med, 1982. 3(2): p. 105-110.
62. Urhausen, A., et al., *Individual anaerobic threshold and maximum lactate steady state*. Int J Sports Med, 1993. 14(3): p. 134-9.
63. Stegmann, H., W. Kindermann, and A. Schnabel, *Lactate kinetics and individual anaerobic threshold*. Int J Sports Med, 1981. 2(3): p. 160-5.
64. Heck, H., *Energiestoffwechsel und medizinische Leistungsdiagnostik*. Hofmann-Verlag Schorndorf.1990. S. 138-139, S.141ff.
65. Keul, J.G., Simon/A., Berg/H.-H, Dickhuth/I., Goerttler/R., Kübel, *Bestimmung der anaeroben Schwelle zur Leistungsbewertung und Trainingsgestaltung*. Dt. Zeitschrift f. Sportmedizin 30 , 7, 212-218, 1979.
66. Kindermann, W., *Sportmedizin für Breiten- und Leistungssport*. Modell zur Bestimmung der individuellen anaeroben Schwelle, In: Kindermann, W./W.Hort. 1981: Gräefelfing.
67. Yoshida, T., *Effect of exercise duration during incremental exercise on the determination of anaerobic threshold and the onset of blood lactate accumulation*. Eur J Appl Physiol Occup Physiol, 1984. 53(3): p. 196-9.

68. Yoshida, T., *Effect of dietary modifications on lactate threshold and onset of blood lactate accumulation during incremental exercise*. Eur J Appl Physiol Occup Physiol, 1984. 53(3): p. 200-5.
69. Ivy, J.L., et al., *Muscle respiratory capacity and fiber type as determinants of the lactate threshold*. J Appl Physiol, 1980. 48(3): p. 523-7.
70. MacRae, H.S., et al., *Effects of training on lactate production and removal during progressive exercise in humans*. J Appl Physiol, 1992. 72(5): p. 1649-56.
71. Brooks, G.A., et al., *Decreased reliance on lactate during exercise after acclimatization to 4,300 m*. J Appl Physiol, 1991. 71(1): p. 333-41.
72. Flore, P., et al., *Influence of moderate cold exposure on blood lactate during incremental exercise*. Eur J Appl Physiol Occup Physiol, 1992. 64(3): p. 213-7.
73. Heck H, B., R, *30 Jahre Laktatschwellen - was bleibt zu tun?* Dt. Zeitschrift f. Sportmedizin 59, Nr.12, 2008. S. 297-302.
74. Wahl, P.B., W, *Moderne Betrachtungsweisen des Laktats: Laktat ein überschätztes und zugleich unterschätztes Molekül*. Schweizerische Zeitschrift für «Sportmedizin und Sporttraumatologie» 57 (3), 100–107, 2009.
75. Brooks, G.A., *Lactate: link between glycolytic and oxidative metabolism*. Sports Med, 2007. 37(4-5): p. 341-3.
76. Robergs, R.A., F. Ghasvand, and D. Parker, *Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2004. 287(3): p. R502-16.
77. Gladden, L.B., *Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium*. J Physiol, 2004. 558(Pt 1): p. 5-30.
78. Gladden, L.B., *Current trends in lactate metabolism: introduction*. Med Sci Sports Exerc, 2008. 40(3): p. 475-6.
79. Hewitt, C.N., S. Hayward, and A. Tani, *The application of proton transfer reaction-mass spectrometry (PTR-MS) to the monitoring and analysis of volatile organic compounds in the atmosphere*. J Environ Monit, 2003. 5(1): p. 1-7.
80. de Gouw, W., *Measurements of volatile organic compounds in the earth's atmosphere using Proton-Transfer-Reaction Mass Spectrometry*. Mass Spectrometry Reviews, 2007. Mar-Apr;26(2):223-57.

81. Schwöbel, S., *Phase-resolved real-time breath analysis during exercise by means of smart processing of PTR-MS data*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011. Oct;401(7):2079-91.
82. Blake, R.S., P.S. Monks, and A.M. Ellis, *Proton-transfer reaction mass spectrometry*. Chem Rev, 2009. 109(3): p. 861-96.
83. Gassel, R., *Sportmedizinische Grundlagen und Empfehlungen- Kleines sportmedizinisches Repititorium für die Praxis*. 2011: GRIN Verlag. S.23 ff.
84. Hopker, J.G., S.A. Jobson, and J.J. Pandit, *Controversies in the physiological basis of the 'anaerobic threshold' and their implications for clinical cardiopulmonary exercise testing*. Anaesthesia, 2011. 66(2): p. 111-23.
85. Myers, J. and E. Ashley, *Dangerous curves. A perspective on exercise, lactate, and the anaerobic threshold*. Chest, 1997. 111(3): p. 787-95.
86. Senthilmohan, S.T., et al., *Quantitative analysis of trace gases of breath during exercise using the new SIFT-MS technique*. Redox Rep, 2000. 5(2-3): p. 151-3.
87. King, J., et al., *Physiological modeling of isoprene dynamics in exhaled breath*. J Theor Biol, 2010. 267(4): p. 626-37.
88. Miekisch, W., et al., *Analysis of volatile disease markers in blood*. Clin Chem, 2001. 47(6): p. 1053-60.
89. Jacquez, J.A., J.W. Poppell, and R. Jeltsch, *Partial pressure of ammonia in alveolar air*. Science, 1959. 129(3344): p. 269-70.
90. Robin, E.D., et al., *Ammonia excretion by mammalian lung*. Science, 1959. 129(3344): p. 270-1.
91. Larson, T.V., D.S. Covert, and R. Frank, *A method for continuous measurement of ammonia in respiratory airways*. J Appl Physiol, 1979. 46(3): p. 603-7.
92. Ishida, H., et al., *The breath ammonia measurement of the hemodialysis with a QCM-NH₃ sensor*. Biomed Mater Eng, 2008. 18(2): p. 99-106.
93. Hunt, RD, *Comparison of partial pressure of ammonia in alveolar gas to that in arterial blood*. J Miss Acad Science, 1977; 22:66.
94. Ament, W., et al., *Respiratory ammonia output and blood ammonia concentration during incremental exercise*. Int J Sports Med, 1999. 20(2): p. 71-7.

95. Harris, R.T. and G.A. Dudley, *Exercise alters the distribution of ammonia and lactate in blood*. J Appl Physiol, 1989. 66(1): p. 313-7.
96. MacLean, D.A., et al., *Plasma and muscle amino acid and ammonia responses during prolonged exercise in humans*. J Appl Physiol, 1991. 70(5): p. 2095-103.
97. Böning, D.B., KM, *Blutgastransport bei Muskelarbeit*. Dt. Zeitschrift f. Sportmedizin 50; 356-361, 1999.
98. Hindfelt, B., *The distribution of ammonia between extracellular and intracellular compartments of the rat brain*. Clin Sci Mol Med, 1975. 48(1): p. 33-7.
99. Onstad, G.R. and L. Zieve, *What determines blood ammonia?* Gastroenterology, 1979. 77(4 Pt 1): p. 803-5.
100. Sahlin, K., et al., *Lactate content and pH in muscle obtained after dynamic exercise*. Pflugers Arch, 1976. 367(2): p. 143-9.
101. Roos, A. and W.F. Boron, *Intracellular pH*. Physiol Rev, 1981. 61(2): p. 296-434.
102. Chin, L.M., et al., *Hyperventilation-induced hypocapnic alkalosis slows the adaptation of pulmonary O₂ uptake during the transition to moderate-intensity exercise*. J Physiol, 2007. 583(Pt 1): p. 351-64.
103. Yuan, Y., et al., *Ammonia threshold--comparison to lactate threshold, correlation to other physiological parameters and response to training*. Scand J Med Sci Sports, 2002. 12(6): p. 358-64.
104. Broberg, S. and K. Sahlin, *Hyperammoniemia during prolonged exercise: an effect of glycogen depletion?* J Appl Physiol, 1988. 65(6): p. 2475-7.
105. Ibanez, J., et al., *Blood lactate and ammonia in short-term anaerobic work following induced alkalosis*. J Sports Med Phys Fitness, 1995. 35(3): p. 187-93.
106. Crofford, O.B., et al., *Acetone in breath and blood*. Trans Am Clin Climatol Assoc, 1977. 88: p. 128-39.
107. Reichard, G.A., Jr., et al., *Plasma acetone metabolism in the fasting human*. J Clin Invest, 1979. 63(4): p. 619-26.
108. Musa-Veloso, K., et al., *Breath acetone predicts plasma ketone bodies in children with epilepsy on a ketogenic diet*. Nutrition, 2006. 22(1): p. 1-8.

109. Goschke, H. and T. Lauffenburger, [*Breath acetone and ketonemia in normal- and overweight subjects during total fasting (author's transl)*]. Res Exp Med (Berl), 1975. 165(3): p. 233-44.
110. Mork, A.K. and G. Johanson, *A human physiological model describing acetone kinetics in blood and breath during various levels of physical exercise*. Toxicol Lett, 2006. 164(1): p. 6-15.
111. King, J., et al., *A mathematical model for breath gas analysis of volatile organic compounds with special emphasis on acetone*. J Math Biol, 2011. Nov;63(5): 959-99.
112. Schrikker, A.C., et al., *The excretion of highly soluble gases by the lung in man*. Pflugers Arch, 1989. 415(2): p. 214-9.
113. Hargreaves, M., *Skeletal muscle metabolism during exercise in humans*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2000. 27(3): p. 225-8.
114. Coyle, E.F., *Physical activity as a metabolic stressor*. Am J Clin Nutr, 2000. 72(2 Suppl): p. 512S-20S.
115. Horowitz, J.F. and S. Klein, *Lipid metabolism during endurance exercise*. Am J Clin Nutr, 2000. 72(2 Suppl): p. 558S-63S.
116. Astorino, T.A., *Is the ventilatory threshold coincident with maximal fat oxidation during submaximal exercise in women?* J Sports Med Phys Fitness, 2000. 40(3): p. 209-16.
117. Spurway, N.C., *Aerobic exercise, anaerobic exercise and the lactate threshold*. Br Med Bull, 1992. 48(3): p. 569-91.
118. Pruett, E.D., *FFA mobilization during and after prolonged severe muscular work in men*. J Appl Physiol, 1970. 29(6): p. 809-15.
119. Kiens, B., T.H. Roemen, and G.J. van der Vusse, *Muscular long-chain fatty acid content during graded exercise in humans*. Am J Physiol, 1999. 276(2 Pt 1): p. E352-7.
120. Sidossis, L.S., et al., *Regulation of plasma fatty acid oxidation during low- and high-intensity exercise*. Am J Physiol, 1997. 272(6 Pt 1): p. E1065-70.
121. Odland, L.M., et al., *Skeletal muscle malonyl-CoA content at the onset of exercise at varying power outputs in humans*. Am J Physiol, 1998. 274(6 Pt 1): p. E1080-5.
122. van Loon, L.J., et al., *The effects of increasing exercise intensity on muscle fuel utilisation in humans*. J Physiol, 2001. 536(Pt 1): p. 295-304.

123. Anderson, J.C., A.L. Babb, and M.P. Hlastala, *Modeling soluble gas exchange in the airways and alveoli*. Ann Biomed Eng, 2003. 31(11): p. 1402-22.
124. Anderson, J.C., W.J. Lamm, and M.P. Hlastala, *Measuring airway exchange of endogenous acetone using a single-exhalation breathing maneuver*. J Appl Physiol, 2006. 100(3): p. 880-9.
125. Hurley, B.F., et al., *Muscle triglyceride utilization during exercise: effect of training*. J Appl Physiol, 1986. 60(2): p. 562-7.
126. Martinez, L.R. and E.M. Haymes, *Substrate utilization during treadmill running in prepubertal girls and women*. Med Sci Sports Exerc, 1992. 24(9): p. 975-83.
127. Miller, B.F., et al., *Lactate and glucose interactions during rest and exercise in men: effect of exogenous lactate infusion*. J Physiol, 2002a. 544(Pt 3): p. 963-75.
128. Miller, B.F., et al., *Metabolic and cardiorespiratory responses to "the lactate clamp"*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2002b. 283(5): p. E889-98.
129. Hashimoto, T. and G.A. Brooks, *Mitochondrial lactate oxidation complex and an adaptive role for lactate production*. Med Sci Sports Exerc, 2008. 40(3): p. 486-94.
130. Frayn, K.N., *Fat as a fuel: emerging understanding of the adipose tissue-skeletal muscle axis*. Acta Physiol (Oxf), 2010. 199(4): p. 509-18.